



Sveučilište u Zagrebu

AGRONOMSKI FAKULTET

Ana Karačić

**Pojavnost viroza u autohtonim kultivarima  
vinove loze u hercegovačkomu vinogorju**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2015.



University of Zagreb

FACULTY OF AGRICULTURE

Ana Karačić

**Incidence of viroses in autochthonous grapevine  
cultivars in Herzegovina vineyards**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2015.



Sveučilište u Zagrebu

AGRONOMSKI FAKULTET

Ana Karačić

**Pojavnost viroza u autohtonim kultivarima  
vinove loze u hercegovačkomu vinogorju**

DOKTORSKI RAD

Mentor: izv. prof. dr. sc. Edyta Đermić

Zagreb, 2015.



University of Zagreb

FACULTY OF AGRICULTURE

Ana Karačić

**Incidence of viroses in autochthonous grapevine cultivars in Herzegovina vineyards**

DOCTORAL THESIS

Supervisor: Ph.D. Edyta Đermić, Associate Professor

Zagreb, 2015.

## **Mentorica: izv. prof. dr. sc. Edyta Ćermić**

Datum i mjesto rođenja: 19. srpnja 1972., Bjelovar, Hrvatska

Matični broj znanstvenika: 225544

**2013.** Izvanredna profesorica Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet (znanstveno područje – Biotehničke znanosti, polje – Poljoprivreda, grana – Fitomedicina).

**2009. – 2015.** Predstojnica Zavoda za fitopatologiju, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.

**2008.** Docentica, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.

**2007.** Doktorica znanosti – Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu (znanstveno područje – Biotehničke znanosti, polje – Poljoprivreda, grana – Fitomedicina).

**2002.** Magistrica znanosti – Sveučilišni znanstveni poslijediplomski studij na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu (znanstveno područje – Biotehničke znanosti, polje – Poljoprivreda, grana – Fitomedicina)

Od **1997.** sudjelovanje u izvođenju nastave (dodiplomski, preddiplomski, diplomski i poslijediplomski studiji na Sveučilište u Zagrebu Agronomskom fakultetu).

**1997.** Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, studij Biologije (inženjerski profil, usmjerenje – Molekularna biologija)

**Mentorstva:** 1 doktorski rad; 15 diplomskih radova; član povjerenstva u obrani više završnih i diplomskih radova; član povjerenstva pri obrani jednoga doktorskog rada i četiri povjerenstva za ocjenu tema doktorskih radova; voditeljica više studentskih stručnih projekata

**Znanstveni interesi:** Istraživanje bakterijskih, virusnih i subvirusnih patogena biljaka te genomika eukariotskih, prokariotskih i acelularnih bioloških entiteta.

**Projekti:** “Science and Innovation Investment Fund TT-IPM FoAZ–Enhancement and collaboration between science, industry and farmers: Technology transfer for integrated pest management (IPM) in sugarbeet as the way to improve farmer’s income and reduce pesticide use” IPAIIC-EU; “International joint Master degree in Plant Medicine” TEMPUS-EU; "Identifikacija fitopatogena molekularnim i drugim metodama" MZOŠ RH; „Gospodarske karakteristike nekih kultivara jabuke otpornih na bakterijsku palež (*Erwinia amylovora*)” VIP-Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva RH, itd.

**Skupovi:** međunarodni (15) i nacionalni (17) znanstveni i stručni skupovi u RH i inozemstvu

**Radovi:** znanstveni i stručni (13 CC, 1 SCI, 8 CAB Abstracts).

**Članstva:** Hrvatsko društvo za biokemiju i molekularnu biologiju, Hrvatsko mikrobiološko društvo, *International working group on fire blight (IWGFB)*, *International working group on plant viruses with fungal vectors (IWGPVfV)*, *American Phytopathological Society (APS)*.

Ovu disertaciju ocijenilo je Povjerenstvo u sastavu:

1. Prof. dr. sc. Edi Maletić,

*redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu, Agronomskoga fakulteta*

2. Prof. dr.sc. Marko Ivanković,

*redoviti profesor Sveučilišta u Mostaru, Agronomskoga i prehrambeno-tehnološkog fakulteta*

3. Izv. prof. dr. sc. Dijana Škorić,

*izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu, Prirodoslovno-matematičkoga fakulteta*

4. Prof. dr. sc. Ivan Pejić,

*redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu, Agronomskoga fakulteta*

5. Prof. dr. sc. Mirna Ćurković-Perica,

*redoviti profesor Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematičkog fakulteta*

Disertacija je obranjena na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu,  
\_\_\_\_\_. pred povjerenstvom u sastavu:

1. Prof. dr. sc. Edi Maletić,\_\_\_\_\_

*redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu, Agronomskoga fakulteta*

2. Prof. dr.sc. Marko Ivanković, \_\_\_\_\_

*redoviti profesor Sveučilišta u Mostaru, Agronomskoga i prehrambeno-tehnološkog fakulteta*

3. Izv. prof. dr. sc. Dijana Škorić,\_\_\_\_\_

*izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu, Prirodoslovno-matematičkog fakulteta*

4. Prof. dr. sc. Ivan Pejić,\_\_\_\_\_

*redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu, Agronomskoga fakulteta*

5. Prof. dr. sc. Mirna Ćurković-Perica,\_\_\_\_\_

*redoviti profesor Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematičkog fakulteta*

Ova doktorska disertacija izrađena je u Fitosanitarnom laboratoriju Federalnoga agromediteranskog zavoda Mostar i laboratoriju Zavoda za fitopatologiju Agronomskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Veći dio kemikalija osigurao je Federalni agromediteranski zavoda Mostar, a jedan dio bio je osiguran preko projekta *Providing genetic diversity and healthy plants for the horticulture in Bosnia and Herzegovina* (HERD/Agriculture).

## ZAHVALE

Ovaj doktorski rad posvećujem svojim roditeljima. Od srca zahvaljujem mami i tati za svu podršku i ljubav tijekom moga cijelog školovanja. Iz ove mi se perspektive čini nemogućim vratiti vam makar i dio onoga što ste mi svo ovo vrijeme davali, ali ponizno obećavam da ću se truditi. Uvijek ste bili i uvijek ćete biti dio mene.

Najljepše hvala mentorici izv. prof. dr. sc. Edyti Đermić na stručnoj pomoći i angažmanu. Zahvaljujem na trudu voditeljima poslijediplomskog studija i svim ostalim profesorima s Agronomskoga fakulteta koji su pomagali da bolje upoznamo ovaj studij i savladamo potrebnu materiju.

Veliko hvala svim mojim prijateljima, prijateljicama, kolegama i kolegicama na strpljivom odgovaranju i slušanju na moja mnogobrojna pitanja i dileme. Zahvaljujem od srca: Darku Vončini, Slavici Matić, Antoneli Kozina, Ani Mandić, Adrijani Filipović, Mileni Bulić, Mariji Miletić, Stanislavi Sušac i Krešimiru Lasiću na podršci te svima ostalima koji su sudjelovali u tome.

Posebnu zahvalnost dugujem kolegama Mladenu Gašparu i Branku Rogiću na pomoći pri prikupljanju uzoraka i stručnim savjetima.

Hvala za nesebičnost prof. dr. sc. Juri Belji.

*Thanks a lot Miss Deborah Golino, PhD Director & Miss Lori Leong - Laboratory Manager (Staff Research Associate), Lab Manager Foundation Plant Services UC Davis for positive controls.*

Kada ti život donese prijatelja koji zauzme ulogu sestre, a koju nemaš, onda kažeš: Mone hvala ti. (U posljednje vrijeme ima novi nadimak K2.)

Hvala za ljubav, strpljenje, radost, brižnost i podršku obitelji Silvane i Lea Mandića.

Zahvaljujem svom poslodavcu Federalnom agromediteranskom zavodu Mostar koji je financijski omogućio da upišem ovaj poslijediplomski studij. Također zahvaljujem na danom povjerenju u stjecanju radnoga iskustva u raznim područjima fitomedicine (zaštite bilja), a posebice virologije što mi je pomoglo da svoj rad povežem s ovim znanstvenim studijem i svojim doktorskim radom. Posebno zahvaljujem direktoru FAZ-a Mostar, prof.dr.sc. Marku Ivankoviću na iskazanom povjerenju.

I najveća hvala dragom Bogu na darovima koji su mi dani da ih mogu koristiti u ovozemaljskom životu, koji su mi omogućili i to da studiram ovaj studij.



## **Loza i njene rozge**

Ovdje je prisutan onaj  
Koji po vjernom očitovanju reče  
Az esam loza istinia a otac moj je vinogradar  
I vsaku rozgu na meni a ploda ne da ja ću odsjeći  
Al onu koja rađa da polje bude bolje  
Da slađi dar i plod veći  
Čistim

Vi već ste čisti slovom istim koje vam glagoljah  
Bacite zato stvari svoje u oganj ovog plama  
Budite tako u meni a ja ću svakako u vama  
Kao u onim što sam od iskoni koje voljah  
Az esam loza  
A vi ste  
Grozje

Ovdje je prisutan onaj  
što spreman je uvijek na riječ i na djelo  
Gdje riječ je od prijeka lijeka  
A djelo kao vrelo  
Gvozje  
On čeka me od vijeka  
On čeka i vidim ga zacijelo  
I silazim k njemu  
Kroz to bijelo  
Lozje

## **Dizdar, Mehmedalija Mak**



## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet

Poslijediplomski doktorski studij Poljoprivredne znanosti

Doktorska disertacija

### **POJAVNOST VIROZA U AUTOHTONIM KULTIVARIMA VINOVE LOZE U HERCEGOVAČKOM VINOGRJU**

**Ana Karačić**

Federalni agromediteranski zavod Mostar  
Biskupa Čule 10, Mostar

Vinova loza važna je kultura kojoj infektivne bolesti virusne prirode mogu drastično skratiti razdoblje eksploatacije. Najvažnija je strateška metoda u kontroli virusnih bolesti vinove loze preventiva i provodi se korištenjem certificirana sadnog materijala pri podizanju novih vinograda. Da bi se uspješno kontroliralo rasprostranjivanje viroza, neophodno je provođenje specifičnih i pouzdanih dijagnostičkih metoda: enzimski imunotest na čvrstoj fazi (ELISA) i reverzna transkripcija uz lančanu reakciju polimeraze (RT-PCR). Primjenom navedenih dijagnostičkih metoda na ukupno 1332 testiranih trsova dobiven je uvid u pojavnost devet virusa na šest ekonomski najvažnijih autohtonih kultivara u hercegovačkim vinogorjima. U šest autohtonih kultivara serološkim metodama detektirani su: *Grapevine leafroll-associated virus-3* (GLRaV-3) u 884 trsova (66,3 %), *Grapevine fanleaf virus* (GFLV) u 500 trsova (37,5 %), *Grapevine leafroll-associated virus-1* (GLRaV-1) u 293 trsova (22,0 %), *Grapevine fleck virus* (GFkV) u 197 trsova (14,7 %), *Grapevine leafroll-associated virus-4-9* (GLRaV-4-9) u 90 trsova (6,7 %), *Arabis mosaic virus* (ArMV) u 17 trsova (1,2 %), *Grapevine leafroll-associated virus-2* (GLRaV-2) u 3 trsa (0,2 %), dok virusi: *Grapevine virus A* (GVA) i *Grapevine virus B* (GVB) nisu detektirani. Od svih je testiranih trsova, 1153 (86,5 %) uzoraka nosilo barem jedan virus, dok je 179 (13,4 %) uzorka bilo zdravo, bez prisustva testiranih virusa. Zdravi trsovi predloženi su kao potencijalne biljke kandidati za proizvodnju sadnoga materijala 'testiranog na viruse'. Analizom rezultata virusnih infekcija utvrđeno je da je 546 (40,9 %) uzoraka zaraženo samo s jednim virusom, 423 (31,7 %) s dva, 155 (11,6 %) s tri, 28 (2,1 %) s četiri, 3 (0,2 %) s pet što je ujedno i najveći broj analizom utvrđenih kombinacija. Od 90 uzoraka koji su serološki bili pozitivni na grupu virusa GLRaV-4-9 (GLRaV-4, -5, -6, -7, -9), izabrano je njih 27 kod kojih je metodom RT-PCR i korištenjem para početnica utvrđena prisutnost GLRaV-5 kod šest uzoraka kao i GLRaV-9 kod sedam uzoraka. Ostali virusi iz grupe GLRaV-4-9 nisu registrirani. Prisutnost GLRaV-2 u uzorku, u kojem je metodom ELISA detektiran, uspješno je potvrđena primjenom

metode RT-PCR uz korištenje GLR2CP1/GLR2CP2 para početnica. Tijekom dvije vegetacijske sezone (2011/12 i 2012/13) vršeno je vizualno praćenje analiziranih trsova. Dominantni simptomi na šest autohtonih kultivara bili su: zastoj u kretanju vegetacije, skraćeni internodiji, različiti poremećaji u rastu i razvoju, uvijenost lišća, nejednolično odrvenjavanje i dozrijevanje grozdova, rehljavost. Prema raspoloživim saznanjima, provedeno istraživanje predstavlja prvi nalaz GLRaV-2, GLRaV-5 i GLRaV-9 u Bosni i Hercegovini potvrđen molekularnim metodama, dok GFkV, GLRaV-2 i grupa virusa GLRaV-4-9 predstavlja prvi nalaz u Bosni i Hercegovini potvrđen serološkim metodama.

(157 stranica, 12 slika, 17 tablice, 213 literarnih navoda, 4 priloga, jezik izvornika: hrvatski)

**Ključne riječi:** vinova loza, autohtoni kultivari, detekcija, ELISA, RT-PCR.

**Mentorica:** izv. prof. dr. sc. Edyta Đermić

**Stručno Povjerenstvo za ocjenu disertacije:** prof. dr. sc. Edi Maletić, redoviti profesor *Sveučilišta u Zagrebu, Agronomskoga fakulteta*; prof. dr.sc. Marko Ivanković, redoviti profesor *Sveučilišta u Mostaru, Agronomskoga i prehrambeno-tehnološkog fakulteta*; izv. prof. dr. sc. Dijana Škorić izvanredni profesor *Sveučilišta u Zagrebu, Prirodoslovno-matematičkog fakulteta*; prof. dr. sc. Ivan Pejić, redoviti profesor *Sveučilišta u Zagrebu, Agronomskog fakulteta*; prof. dr. sc. Mirna Ćurković-Perica redoviti profesor *Sveučilišta u Zagrebu, Prirodoslovno-matematičkoga fakulteta*.

Rad je pohranjen u Centralnoj agronomskoj knjižnici na Sveučilištu u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska 25, Zagreb; Nacionalna i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Hrvatske bratske zajednice b.b. i Sveučilištu u Zagrebu, Trg maršala Tita 14.

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

University of Zagreb Faculty of Agriculture

Postgraduate Doctoral studies in Agricultural Sciences

Doctoral Thesis

### **INCIDENCE OF VIROSES IN AUTOCHTHONOUS GRAPEVINE CULTIVARS IN HERZEGOVINA VINEYARDS**

**Ana Karačić**

Federal agromediterranean institute of Mostar  
Biskupa Čule 10, Mostar

Grapevine is an important species in which infectious diseases caused by viruses can drastically reduce the period of exploitation. The most important control strategy of grapevine viroses is prevention and consists of the use of certified planting materials in the establishment of new vineyards. In order to successfully control the virus spread, the implementation of specific and reliable diagnostic methods is essential: enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and reverse transcription and polymerase chain reaction (RT-PCR). Using the above mentioned diagnostic techniques from the total number 1332 grapevine, an insight into the incidence of nine viruses in the six most important autochthonous cultivars grown in Herzegovina was gained. In the six autochthonous cultivars, using serological methods, the following viruses were detected: *Grapevine leafroll-associated virus-3* (GLRaV-3) - in 884 grapevines (66,3 %), *Grapevine fanleaf virus* (GFLV) - in 500 grapevines (37,5%), *Grapevine leafroll-associated virus-1* (GLRaV-1) - in 293 grapevines (22,0%), *Grapevine fleck virus* (GFkV) - in 197 grapevines (14,7 %), *Grapevine leafroll-associated virus-4-9* (GLRaV-4-9) - in 90 grapevines (6,7 %), *Arabis mosaic virus* (ArMV) - in 17 grapevines (1,2%), *Grapevine leafroll-associated virus-2* (GLRaV-2) - in 3 grapevines (0,2 %), while viruses *Grapevine virus A* (GVA) and *Grapevine virus B* (GVB) were not detected. Of all tested grapevines, 86,5 % specimens (1153 grapevines) had at least one virus, while 13,4 % specimens (179 grapevines) was free of tested viruses. The virus-free grapevines are proposed as a potential candidate plants for production of virus-tested planting material. The analysis of results showed that 546 grapevines (40,9%) were infected by only one virus, 423 (31,7 %) by two, 155 (11,6 %) by three, 28 (2,1 %) by four, 3 (0,2 %) by five, which presented the highest number of viruses in mixed infections. From 90 specimens positive on GLRaV-4-9 (GLRaV -4, -5, -6, -7, -9) viruses, 27 are chosen, and, by using RT-PCR method employing pair of primers, the presence of GLRaV-5 in 6 specimens and

GLRaV-9 in 7 specimens is detected. The other viruses belonging to GLRaV-4-9 group were not detected. The presence of GLRaV-2 in ELISA positive specimen is successfully confirmed using RT-PCR method with the use of GLR2CP1/ GLR2CP2 pair of primers. During two vegetation seasons (2011/12, 2012/13) visual observation of analysed grapevines was carried out. The dominant symptoms on 6 autochthonous cultivars: delayed start vegetation., reduced internodes, different disturbances in growth and development, leafroll, irregular lignification and ripening of grapes and, poor fruit set. According to our knowledge, this is the first report of GLRaV-2, GLRaV-5 and GLRaV-9 in Bosnia and Herzegovina on the genome (nucleic acids) based methods, and GFkV, GLRaV-2 and group of GLRaV-4-9 associated viruses on the basis of serological methods.

( 157 pages, 12 figures, 17 tables, 213 references, 4 attachments, original in Croatian)

**Keywords:** grapevine, autochthonous cultivars, detection, ELISA *Enzyme Linked Immunosorbent Assays* , RT-PCR.

**Supervisor:** Ph.D. Edyta Đermić, Associate Professor

**Reviewers:** Ph.D. Edi Maletić, Full Professor, University of Zagreb Faculty of Agriculture; Ph.D. Marko Ivanković, Full Professor, University of Mostar Faculty of Agriculture and Food Technology; Ph.D. Dijana Škorić, Associate Professor, University of Zagreb Faculty of Science; Ph.D. Ivan Pejić, Full Professor, University of Zagreb Faculty of Agriculture; Ph.D. Mirna Ćurković-Perica, Full Professor, University of Zagreb Faculty of Science.

Thesis deposited in Central Agricultural Library at the University of Zagreb Faculty of Agriculture, Svetošimunska 25, Zagreb; National and University Library, Hrvatske bratske zajednice bb. and University of Zagreb, Trg maršala Tita 14, Zagreb.

## Sadržaj

1. UVOD .....	1
1.1. Ciljevi istraživanja.....	3
1.2. Hipoteza .....	4
1.3. Znanstveni i praktični doprinos disertacije.....	4
2. PREGLED LITERATURE .....	5
2.1. Viroze vinove loze.....	5
2.1.1. Rodovi <i>Closterovirus</i> i <i>Ampelovirus</i> .....	8
2.1.2. Rod <i>Velarivirus</i> .....	13
2.1.3. Rod <i>Maculavirus</i> .....	14
2.1.4. Rodovi <i>Vitivirus</i> i <i>Foveavirus</i> .....	15
2.1.5. Rod <i>Nepovirus</i> .....	17
2.2. Pregled dosadašnjih istraživanja na mediteranskom području s posebnim osvrtom na Bosnu i Hercegovinu i Hrvatsku .....	21
2.3. Pregled zakonske legislative u Bosni i Hercegovini i EU o temeljnim čimbenicima kakvoće sadnoga materijala vinove loze .....	25
3. MATERIJALI I METODE .....	28
3.1. Materijali .....	28
3.1.1. Kolekcijski nasad .....	28
3.1.2. Terenska istraživanja i podrijetlo virusnih izolata (izvor antigena) .....	29
3.1.2.1. Autentičnost uzoraka .....	31
3.1.2.2. Kultivatri u istraživanju.....	31
3.1.3. Lokacije uzorkovanja .....	35
3.1.4. Osnovne kemikalije.....	38
3.1.5. Pufferi i otopine .....	38
3.1.6. Oligonukleotidne početnice.....	38
3.1.7. Pozitivne kontrole.....	40
3.1.8. Standard za utvrđivanje DNA molekularne mase (DNA <i>fragment size</i> ).....	40
3.1.9. Komercijalni dijagnostički kompleti ( <i>kitovi</i> ).....	40
3.2. Metode.....	41

3.2.1. Vizualni pregledi simptoma virusnih zaraza .....	41
3.2.2. Serološke metode za detekciju virusa.....	42
3.2.2.1. Virusi obuhvaćeni testiranjem metodom ELISA.....	43
3.2.2.2. Dvostruka protutijelna sendvič ELISA (DAS ELISA).....	43
3.2.2.3. Dvostruka protutijelna sendvič ELISA uz prethodno oblaganje mikrotitarskih pločica s proteinom A (Protein-A DAS ELISA).....	44
3.2.2.4. Trostruka protutijelna sendvič indirektna ELISA (TAS ELISA) .....	44
3.2.2.5. Dvostruka protutijelna sendvič indirektna ELISA uz direktno vezanje antigena (DASI ELISA) .....	44
3.2.2.6. Spektrofotometrijsko očitavanje ELISA rezultata.....	45
3.2.3. Utvrđivanje prisutnosti virusa metodom RT-PCR .....	45
3.2.3.1. Ekstrakcija ukupne RNA.....	46
3.2.3.2. Modifikacija protokola za ekstrakciju ukupne ribonukleniske kiseline (RNA) .....	47
3.2.3.3. Sinteza virusnih cDNA i PCR amplifikacija.....	48
3.2.3.4. Semikvantitativni RT-PCR za GLRaV-2 .....	50
3.2.3.5. Elektroforeza umnoženih produkata u agaroznom gelu .....	50
4. REZULTATI.....	51
4.1. Rezultati serološke detekcije virusa .....	51
4.2. Rezultati detekcije virusa metodom RT-PCR .....	63
4.2.1. Rezultati PCR amplifikacije u detekciji GLRaV-2 .....	63
4.2.2. Rezultati RT-PCR metode.....	64
4.3. Simptomatologija prirodnih virusnih zaraza autohtonih kultivara .....	67
5. RASPRAVA.....	81
6. ZAKLJUČCI.....	97
7. POPIS LITERATURE .....	99
8. PRILOZI.....	120
Prilog 1. Postupak pripreme pozitivnih kontrola.....	120
Prilog 2. Vinogradi u kojima je vršeno istraživanje viroza. ....	121
Prilog 3. Kolekcijski nasad <i>Višići</i> .....	125

Prilog 4. Rezultati analiza .....	131
9. ŽIVOTOPIS AUTORICE S POPISOM OBJAVLJENIH DJELA .....	154



## 1. UVOD

Vinova loza (*Vitis* spp. L.) predstavlja jednu od najvažnijih poljodjelskih kultura koja je široko rasprostranjena u umjerenim klimatskim područjima i predstavlja vrlo vrijednu poljoprivrednu robu (vino, grožđe, plemke, podloge). Angažmani institucija usko povezanih s industrijom vinove loze na Mediteranu kao području slobodne trgovine, pridonose direktnom uključivanju u međunarodne istraživačke projekte i aktivnosti Mediteranske mreže za certifikaciju vinove loze, podržavajući kooperativne studije povezane s razvojem sveukupnoga vinogradarstva.

Vinogradarstvo je važna gospodarska grana Bosne i Hercegovine, a 99,44 % vinogradarske proizvodnje Bosne i Hercegovine obavlja se na području Hercegovine i to u mostarskom i lištičkom vinogorju. U preostala je četiri vinogorja vinogradarska proizvodnja praktično minorna (Lasić, 2014). Službeni statistički podaci o površinama pod vinogradima postoje do 2012. godine, ali nisu detaljni. Osim niske kvalitete statističkih podataka, prisutna je i raznolikost modela prikupljanja statističkih podataka po različitim ustrojbenim jedinicama države (Lasić, 2014). Spomenuta raznolikost modela prikupljanja podataka onemogućava primjerenu usporedbu podataka i donošenje generalnih zaključaka. Od ukupno 495. 590,00 ha površina hercegovačkih općina pogodnih za uzgoj vinove loze, vinogradi čine oko 3.521,55 ha površina (Leko, osobna komunikacija<sup>1</sup>).

Vinogradarska proizvodnja Hercegovine koncentrirana je u mostarskom i lištičkom vinogorju gdje se uzgajaju autohtoni kultivari. Međutim orijentacija vinogradara na plantažni uzgoj i na primjenu gotovih cijepova, ima za posljedicu da je danas u uzgoju prisutno do šest komercijalno važnih autohtonih kultivara, dok ostalima prijeti izumiranje. Unatoč dugoj tradiciji uzgoja vinove loze, detaljan opis autohtonih hercegovačkih kultivara nije postojao. Postoji samo djelomičan opis nekih najvažnijih komercijalnih kultivara (Bulić, 1949, Vuksanović i sur., 1977, Mirošević i Turković, 2004). Međutim *Atlas vinogradarstva i vinarstva Bosne i Hercegovine* (Beljo, i sur., 2014), posebice u poglavlju Ampelografske karakteristike hercegovačkih sorata, pruža do sada najdetaljniji opis 15 autohtonih kultivara. Glavno je obilježje hercegovačkih vinograda da su vinski kultivari dominantni u uzgoju (90 %) i da prevladavaju autohtoni kultivari. Od autohtonih hercegovačkih kultivara najznačajniji

---

<sup>1</sup>Predstavlja izračun dobiven prilikom izrade vinogradarskog katastra koji još nije objavljen.

su: Žilavka<sup>2</sup> (50 %), Blatina (40 %) i Krkošija (2 %), te kultivari koji se smatraju autohtonim Bena (5 %), Trnjak (7 %) i Dobrogostina (1 %). Ostali su autohtoni kultivari rijetki i nalaze se sporadično u starim vinogradima, na odrinama/pergolama seoskih dvorišta, pokraj suhozida i sl.

Kao i većina vegetativno razmnoženih usjeva, vinova loza izložena je napadima raznih štetočina i patogena, među kojima infekcije unutarstaničnih i međustaničnih patogena (virusi, viroidi, na floem i/ili ksilemu ograničeni prokarioti) igraju vodeću ulogu uzrokujući velike gubitke koji se očituju kroz skraćivanje produktivna života vinograda i time dovode u pitanje rentabilnost zahvaćenih vinograda. S obzirom na važnost industrije vinove loze i veličinu problema uzrokovanih tim patogenima, potaknut je interes za tu problematiku, što je rezultiralo intenzivnim istraživanjima osobito aktivnim na međunarodnoj razini od kasnih 50-ih godina prošloga stoljeća naovamo.

Virusne bolesti spadaju među najopasnije i ekonomski vrlo štetne bolesti biljaka. Najopasniji su zbog svoga obligatorna parazitizma tako da se za razliku od zaraza većinom gljivičnih i bakterijskih patogena virotični trsovi ne mogu izliječiti, nego ostaju zaraženi do kraja života. Vinova loza podložna je zarazi sa 65 do sada poznatih vrsta virusa (Martelli, 2014). Većina štetnih virusa pripada rodovima: *Closterovirus*, *Ampelovirus*, *Maculavirus*, *Vitivirus*, *Foveavirus* i *Nepovirus* (Fauquet i sur., 2005). Do sada je zabilježeno 25 priznatih virusnih i virozama sličnih (engl. *virus-like*) bolesti vinove loze (*Vitis* i *Muscadinia* spp.) (Martelli, 2010). Od toga su najvažniji virusi na vinovoj lozi: virus lepezasta lista vinove loze (eng. *Grapevine fanleaf virus*, akronim GFLV), virus mozaika gušarke (eng. *Arabis mosaic virus*, akronim ArMV), uvijenosti lista vinove loze pridruženi virusi 1-9 (eng. *Grapevine leafroll associated* -1 do -9, akronim GLRaV-1 od -9), virus pjegavosti vinove loze (eng. *Grapevine fleck virus*, akronim GFkV), A-virus vinove loze (eng. *Grapevine virus A*, akronim GVA) i B-virus vinove loze (eng. *Grapevine virus B*, akronim GVB).

Ekonomski gubitak u vinogradarskoj proizvodnji uzrokovan virozama teško je procijeniti jer se temelji osim na smanjenju prinosa u količini i kvaliteti i u smanjenju vigora, što za posljedicu ima direktno skraćivanje eksploatacijskoga vijeka vinograda. Osim toga smanjena je otpornost prema drugim biotičkim i abiotičkim utjecajima. Viroze uzrokuju poteškoće i u proizvodnji sadnoga materijala, kroz smanjenje sposobnosti ukorjenjivanja,

---

<sup>2</sup> Naziv kultivara/sorata u radu su pisani velikim slovom kao tradicijski izbor, a ne u skladu s pravopisnom normom hrvatskog jezika.

slabijega sraščivanja ili izraženije inkompatibilnosti podloge i plemke. Premda su vektori glavni prenosioci virusa, u praksi je najčešći način prijenosa korištenje zaražena sadnog materijala.

Stoga u zemljama s razvijenom vinogradarskom proizvodnjom velika važnost pridaje se proizvodnji bezvirusna sadnog materijala (*virus-free*) kao najučinkovitijega preventivnog sustava u borbi protiv virusnih oboljenja. U Bosni i Hercegovini može se nabaviti isključivo standardni sadni materijal (CAC kategorije - *Conformitas Agraria Communitatis*) autohtonih kultivara upitne kakvoće, dok se inducirani/alohtoni kultivari mogu uvesti kao certificirani sadni materijal. Certifikacija sadnoga materijala omogućuje učinkovitu kontrolu i sprječavanje rasprostranjivanja gospodarski važnih i administrativno reguliranih biljnih parazita, u prvom redu virusa i fitoplazmi te gljivičnih i bakterijskih oboljenja vinove loze.

Da bi se osigurao certificirani sadni materijal autohtonih kultivara, neophodno je provođenje klonske selekcije. Masovna pozitivna selekcija i dobivanje podataka o općem stanju zaraženosti prvi su koraci u postupku individualne klonske selekcije. Istraživanje provedeno u ovoj disertaciji stvara osnovu za daljnje korake prema certificiranom sadnom materijalu hercegovačkih autohtonih kultivara.

Vjerujemo da će ovaj rad pridonijeti boljem sagledavanju trenutnoga zdravstvenog stanja autohtonih kultivara vinove loze koji se uzgajaju na području Bosne i Hercegovine, a sve u uspostavljanju prioritetnog cilja proizvodnje certificirana sadnog materijala autohtonih kultivara vinove loze u Bosni i Hercegovini.

## **1.1. Ciljevi istraživanja**

1. Analizirati prisutnost devet ekonomski najvažnijih virusa kod šest autohtonih kultivara u Hercegovini.
2. U slučaju pronalaska virusa koji još nisu potvrđeni na području Bosne i Hercegovine (GVA, GVB, GFkV, GLRaV-2 i GLRaV-4-9) provesti njihovu molekularnu karakterizaciju i filogenetsku usporedbu s izolatima iz susjednih zemalja (Hrvatska i Italija).
3. Opisati simptome na trsovima autohtonih kultivara s miješanom i pojedinačnom infekcijom.

## 1.2. Hipoteza

S obzirom na rezultate istraživanja u zemaljama iz okruženja pretpostavlja se da su autohtoni bosansko-hercegovačkih kultivari, kod kojih do sada nije istraživana zaraženost virusima, opterećeni gospodarski štetnim virusima u visokom postotku, ali da je ipak moguće pronalaženje manjega broja zdravih trsova koji bi poslužili u inicijaciji proizvodnje bezvirusna materijala.

## 1.3. Znanstveni i praktični doprinos disertacije

Inventarizacijom virusa vinove loze prisutnih u Hercegovini pružit će se cjelovit prikaz sanitarnoga statusa autohtonih kultivara. Detaljnim opisom simptoma viroza na trsovima s pojedinačnim i kombiniranim virusnim infekcijama steći će se uvid u raznolikost populacija istraživanih virusa na autohtonim kultivarima. Utvrđena prisutnost virusa GLRaV-4-9 (*Grapevine leafroll-associated virus-4-9*), kao i GLRaV-2 serološkim metodama potvrđeno je RT-PCR-om, što predstavlja originalni aspekt ovoga istraživanja, budući da do sada nisu provedene dijagnostičke metode bazirane na istraživanju genoma na autohtonim kultivarima u hercegovačkim vinogorjima.

Trsovi za koje se dokaže da nisu zaražene ni s jednim od 9 virusa (GFLV, ArMV, GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3, GLRaV-4-9, GFkV, GVA, GVB), bit će uključeni u proces zdravstvene selekcije. Utvrđivanjem fitosanitarnoga statusa vinove loze u BiH, omogućio bi se i pokrenuo proces certifikacije i proizvodnje bezvirusna materijala u cilju očuvanja i popularizacije autohtonih kultivara vinove loze.

## 2. PREGLED LITERATURE

### 2.1. Viroze vinove loze

Prema svom podrijetlu vinova loza je šumska puzavica i kao takva u slobodnoj prirodi raste kao pojedinačan sijanac, najčešće izdvojeno. Uvjete koje je divlja loza imala u takvim staništima pružali su joj izolaciju od mnogih bolesti. Čovjek ju je počeo uzgajati, a svojim agrotehničkim zahvatima, koji su se mijenjali kroz stoljeća, uvelike je pridonio rasprostranju brojnih biljnih bolesti.

Negdje na tom putu razvoja vinova loza je inficirana virusima (Vuittenez, 1977). Prema navodima Hewitta (1970) virus infektivne degeneracije vinove loze evoluirao je kroz nekoliko milijuna godina.

Premda su virusna oboljenja stara, ekonomska štetnost viroza vinove loze počela je rasti nakon 1860. godine, kada je iz Amerike unesen trsov ušenac (filoksera, *Viteus vitifoliae* Fitch). Taj je opasan štetnik do kraja 1880. godine uništio većinu europskih vinograda. U cilju eliminacije spomenuta štetnika, reznice su, kao sadni materijal, zamijenjene cijepom dobivenim spajanjem (cijepljenjem) osjetljivih europskih kultivara na otpornije podloge američke loze (*Vitis riparia*, *Vitis rupestris*, *Vitis berlandieri*) i njihove hibride.

Nažalost, u isto vrijeme, zbog prometa sadnoga materijala preneseni su i rasprostranjeni virusi. Unatoč vizualnom odabiru vinove loze, latentne infekcije trsova nisu bile isključene (Uyemoto i sur., 2009). Rasprostranjivanju virusa vinove loze pridonijeli su i vektori, uglavnom ektoparazitske nematode iz reda *Dorylamidae*.

Velike ekonomske štete u vinogradarstvu, i u svijetu i na prostorima Mediterana uključujući i njegov dio Balkana, nanijete su nekontroliranom razmjenom i prometom sadnica vinove loze u milijunskim količinama posebice od 30-tih godina prošloga stoljeća (Avramov i sur. 1987). Visina ekonomske štete ovisi o vrsti i soju virusa, osjetljivosti kultivara, načinu prijenosa, vrsti simptoma i mnogim drugim čimbenicima (Šutić i sur., 1999). Mnoge divlje biljke imaju virusnu infekciju i ne razvijaju simptome, što upućuje na mogućnost prilagodbe biljaka na virus (Kurstaki, 1981). Međutim postoje razlike u interakcijama biljka – domaćin koje nisu dio „prilagodbe“, nego su ingerentne svakom akteru zasebno, a zatim kod duge koevolucije biljke i virusa može doći do razvoja takvih interakcija i selekcije onih koje su najpovoljnije za opstanak obje strane što možemo vidjeti kao asimptomatičnu zarazu.

Nadalje eksperimentalno je potvrđeno da neke viroze imaju širok spektar simptoma kao posljedica djelovanja kompleksa virusa (Bercks i Stellmach, 1966). Mješovite infekcije virusima mogu rezultirati izraženijim simptomima virusne bolesti, no simptomi ponekad izostaju. Simptomi mogu izostati ili biti intenzivniji ovisno o podlozi i kultivaru (Lunden i sur., 2008; Rowhani i sur., 2005).

Kako su virusne čestice uglavnom nestabilne i podložne brzom razgradnji usljed različitih čimbenika, često su u niskoj koncentraciji u biljci-domaćinu (u ovom slučaju vinovoj lozi) i metode za njihovo potpunije i detaljnije proučavanje sporije su se razvijale (Pejičinovski, 1974). Prava ekspanzija u proučavanju virusa, pa tako i virusa vinove loze, nastupila je početkom sedamdesetih godina prošloga stoljeća, a traje i danas. Napretkom laboratorijskih tehnika usavršavane su metode za brzo i uspješno dokazivanje virusa, kao i za detaljno proučavanje njihovih genoma: imuno-enzimska metoda na mikrotitarskim pločicama-MTP-a (eng. *enzyme-linked immuno-sorbent assay*, ELISA), imuno-elektronska mikroskopija (eng. *immuno sorbent electron microscopy*, ISEM), metoda *dot-blot* (eng. *dot-blot method*), lančana reakcija polimeraze (eng. *Polymerase Chain Reaction*, PCR) i reverzna transkripcija uz lančanu reakciju polimeraze (eng. *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*, RT-PCR) (Boscia i sur. 1995a, 1995b).

PCR s polivalentnim početnicama je jednostavna strategija koja se učestalo primjenjuje za aspecifičnu i simultanu detekciju članova nekoliko rodova i porodica biljnih virusa (James i sur., 2006). U slučaju virusa vinove loze, uspješno se koriste degenerirane (imaju degeneriran dio slijeda) početnice za simultanu detekciju klosterovirusa (Saldarelli i sur., 1998), foveavirusa i vitivirusa (Dovas i Katis, 2003) te *fleck-like* virusa (Sabanadzivic i sur., 2000). Za nepoviruse primjena polivalentnih početnica ograničena je na GFLV i ArMV korištenjem početnica namijenjenih za konzervirani dio proteinskog gena za kapsidni protein (Wetzel i sur., 2002). Stvaranje/razvoj tri seta početnica za multiplu detekciju nepovirusa koji pripadaju podskupinama A, B i C, predstavlja koristan alat za poboljšanje osjetljivosti detekcije i smanjenje troškova velikih istraživanja (Digiario i sur., 2007).

Sprječavanje rasprostranjenja virusa zahtijeva učinkovite i robusne dijagnostičke metode, a oslanja se na provjerene biološke, te dijagnostičke tehnike kao što su serološke (koje otkrivaju virusni CP) i/ili metode čiji su ciljevi dijelovi genoma (koje otkrivaju virusne nukleinske kiseline). Trenutačno dostupni laboratorijski protokoli omogućuju dobivanje rezultata za relativno velik broj uzoraka u nekoliko dana, a neke metodologije, npr ELISA, predstavljaju jednostavnu dijagnostičku platformu dostupnu minimalno opremljenim laboratorijima, bez gubitka robusnosti i osjetljivosti (Saldarelli i sur., 2012a).

Dijagnostičke tehnike kao što su serološke i/ili metode čiji su ciljevi dijelovi genoma (nukleinske kiseline) otkrivaju poznate i dobro karakterizirane viruse. U slučaju pojave nepoznatih bolesti, provode se strategije otkrivanja "širokoga spektra" patogena (Saldarelli i sur., 2012a).

Dostupne alate predstavljaju "generički PCR" (Saldarelli i sur., 1998) koji omogućava identifikaciju na razini virusnoga roda/porodice s degeneriranim početnicama, koje omogućavaju otkrivanje konzerviranih sekvencija virusnoga genoma (Rott i Jelkmann, 2001) uglavnom počevši od dvolančane replikativne forme RNA (dvolančana RNA, eng. *double stranded RNA, dsRNA*) nepoznatih virusnih genoma.

Odnedavno su novi i suvremeni pristupi u metagenomici omogućili karakterizaciju virusnih zajednica u vinogradu ili na pojedinim lozama, a to je rezultiralo otkrićem novih virusa (Giampetruzzi i sur., 2012) čija se uloga u izazivanju bolesti proučava ili samostalno ili u sinergiji s drugim virusima. Te nove generacije tehnologije sekvenciranja (*next generation sequencing*, NGS), iscrpno istražujući genomske sadržaje stanica/tkiva i organizma, otvaraju novu eru u procjeni fitosanitarnoga statusa biljke, a također i u analizi interakcije biljka – virus(i) (Saldarelli i sur., 2012a).

Pregled literature pokazuje intenzivan rad na proučavanju viroza vinove loze na međunarodnoj razini u posebice od 30-ih godina prošloga stoljeća naovamo (Bovey i Martelli, 1986), što je dovelo do formiranja Međunarodnoga vijeća za istraživanje viroza i virozama sličnih bolesti vinove loze (*International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine*, ICVG). Opise novo otkrivenih virusa vinove loze i nova istraživanja moguće je pratiti djelomično putem rada toga vijeća, ali za same opise virusa, potvrde novih vrsta i imenovanje odgovoran je ICTV (*International Committee on Taxonomy of Viruses*). Prema posljednjim podacima, uzročnika virusnih bolesti na vinovoj lozi trenutačno ima 65 vrsta (Martelli, 2014) što je čini domaćinom više virusa, nego što je to kod bilo koje druge drvenaste vrste. Većina tih virusa imaju jednolančani ili dvolančani RNA-genom, ali u posljednje vrijeme pronađeno je i par uzročnika s DNA-genomom (Zhang i sur., 2011; Al Rawhani i sur., 2013). Unatoč velikom broju virusa kojima je domaćin vinova loza, samo manji dio njih uzrokuje gospodarski važne bolesti, dok ostatak pripada skupini virusnih bolesti manje važnosti (Saldarelli i sur., 2012). Najvažniji virusi povezani su s rodovima: *Closterovirus*, *Ampelovirus*, *Maculavirus*, *Vitivirus*, *Foveavirusi* *Nepovirus* (Fauquet i sur., 2005) čije su vrste uzročnici bolesti od gospodarske važnosti (Martelli, 2010).

Važnijih je infektivnih bolesti vinove loze u svijetu malo (*infectious degeneration*, *leafroll*, *rugose wood*, *yellow*s), ali su vrlo štetne. Prevladavajući su uzročnici bolesti virusi

koje prenose nematode (nepovirusi i *Strawberry latent ringspot virus*), štitaste uši (eng. *pseudococcid mealybugs* i eng. *soft-scale* insekti) klosterovirusi i vitivirusi) (Martelli, 2010). Na visinu ekonomske štete utječu vrsta i soj virusa, osjetljivost kultivara, način prijenosa, vrsta simptoma i mnogo drugih čimbenika (Šutić i sur., 1999). Virusi se mogu pojavljivati u mješovitim zarazama što može rezultirati izraženijim simptomima virusne bolesti ili simptomi mogu izostajati. Simptomi mogu izostati ili biti intenzivniji ovisno o podlozi i kultivaru (Lunden i sur., 2008; Rowhani i sur., 2005).

### 2.1.1. Rodovi *Closterovirus* i *Ampelovirus*

Predstavnicima su tih rodova virusi skupine GLRaV (LR) koji su pripadnici porodice *Closteroviridae* (ICTV). Virusi iz skupine uvijenosti lista vinove loze (*leafroll* virusi, LR) rasprostranjeni su širom svijeta (Alkowni i Rowhani, 2003; Martelli i sur., 2002) i uzrokuju ekonomski važne bolesti kultivirane vinove loze i vinskih i stolnih kultivara (Maree i sur., 2013). Ni jedan virus od virusa LR-a nema status karantenskoga patogena. Međutim ti virusi mogu predstavljati fitosanitarni rizik, osobito u područjima gdje se nove sorte vinove loze uvode bez prethodnoga testiranja (Digiario i sur., 1998).

Bolest uvijenosti lista, zbog svojih jedinstvenih simptoma, bila je poznata od sredine 19. stoljeća pod raznim imenima (Fabre, 1853; Pastre, 1891; Sannino, 1906; Ravaz i Verge, 1924) i smatrana je fiziološkim poremećajem (Sannino 1906; Ravaz i Verge, 1924). O virusnoj prirodi bolesti *leafroll* zaključeno je temeljem pozitivnih rezultata pokušaja prijenosa virusa provedenih u Njemačkoj (Scheu, 1935). Međutim uzročnik je ostao nepoznat do kasnih 70-ih kad su Namba i sur. (1979) pronašli čestice nalik klosterovirusu u japanskoj lozi sa simptomima uvijenosti lista, te povezali taj tip virusa s bolešću.

Prva djelomična karakterizacija dva takva serološki različita virusa, označena kao "tip I" i "tip II", provedena je nekoliko godina kasnije u Švicarskoj (Gugerli i sur., 1984). To je bio začetak sustava označavanja zasnovana na uporabi brojeva kako bi se identificirali različiti virusi.

U Europi i SAD-u stalno se povećao broj novih vrsta virusa u rodovima *Ampeloviruses* i *Closterovirus* identificiranih kod vinove loze sa simptomima *leafrolla*.

Ovisno o aminokiselinskoj sekvenciji konzervirane HSP70h regije GLRaV-2 je uključen u rod *Closterovirus*, a GLRaV-4, GLRaV-5, GLRaV-6, GLRaV-9, GLRaV-Pr, GLRaV-De i GLRaV-Car u podskupinu I roda *Ampelovirus*, dok su GLRaV-1 i GLRaV-3 u podskupini II toga roda (Maliogka i sur., 2008).



Virusne su čestice tih rodova nitaste građe, (dužine 1400-2200 nm i širine/promjera 10-12 nm). Duljina čestica varira ovisno o vrsti virusa (Martelli i sur., 1997); GLRaV-1 sadržava 18659 nukleotida (nt), GLRaV-3 18498 nt, a GLRaV-2 16494 nt.

Analiza je pokazala da su GLRaV-1 i GLRaV-3 uže povezane jedna s drugom, nego s drugim *Closteroviridae* (Fazeli i Rezaian, 2000). Pažljivim promatranjem simptoma u zaraženim klonovima loze, otkriva se da postoji nekoliko različitih vrsta *leafrolla*, koji se razlikuju i u jačini (Krake, 1993). Svi su GLRaV virusi morfološki slični jedan drugom kada se promatraju pod elektronskim mikroskopom, ali se serološki razlikuju. Sadrže monopartitni genom koji čini jednolančana molekula RNA pozitivnoga polariteta [*ss(+)*RNA] (Martelli i sur., 2002).

Virusi GLRaV unose se vektorima (Cabaleiro i Segura, 1997), a umnažaju se u stanicama parenhima, pratećim stanicama i diferenciranim sitastim cijevima, gdje se nakupljaju virusne čestice (Faoro, 1997). Budući da floemsko tkivo prenosi u vodi otopljene asimilate u silaznom smjeru odnosno od lista prema drugim dijelovima, asimilate unose u svoj organizam vektori iz floema u sitastim cijevima gdje se nalaze asimilati koji su produkti fotosinteze, vektori uzimaju biljni sok i na taj način prenose viruse.

Citopatološke promjene biljnoga tkiva kod LR-zaraza karakterizira prisutnost inkluzijskih tijela koja se sastoje od virusnih čestica, raspršenih ili u hrpama/skupinama, pomiješanih s jednom ili skupinom membranastih vezikula. Te su vezikule (vezane za endoplazmatski retikulum), koje sadrže dsRNK, vjerojatno mjesto replikacije virusne RNA. Potječu ili iz endoplazmatskog retikuluma kao u slučaju GLRaV-2 i GLRaV-7 (Castellano i sur., 2000), ili iz oštećenoga mitohondrija kao u slučaju GLRaV-1, GLRaV-3 i GLRaV-5 (Faoro i sur., 1991; Faoro i Carzaniga, 1995; Faoro, 1997).

Propagacijski materijal (plemka, podloga, cijep) bili su, i još su uvijek, u velikoj mjeri odgovorni za rasprostranjenje viroza LR na velike udaljenosti. U rasprostranjenju viroze unutar nasada posreduju vektorske štitaste uši i to one iz porodice *Pseudococcidae* (eng. *mealybugs*) i one iz nadporodice *Cocidae* (eng. *soft scale*).

Prirodno rasprostranjenje LR-a u polju bolesti zamijećeno je još ranih 1970-ih u Europi, a zatim u Južnoj Africi, Meksiku, Novom Zelandu i Australiji (Martelli i sur., 1997). Do sada su identificirani sljedeći vektori:

(i) GLRaV-1 prenosi se u prirodi štitastim ušima iz porodice *Pseudococcidae* (eng. *mealybugs*), *Heliococcus bohemicus*, *Phenacoccus aceris* (Sforza i sur, 2000), *Pseudococcus affinis*, *Ps. calceolariae*, *Ps. viburni*, *Ps. maritimus*, *Ps. comstocki* i štitastim ušima nadporodice *Cocidea* (eng. *soft scale*): *Pulvinaria vitis* (Sforza i sur, 2000), *Parthenolecanium corni*

(Fortusini i sur., 1997; Sforza i sur., 2000) i *Neopulvinaria innumerabilis* (Fortusini i sur., 1997);

(ii) vektori GLRaV-3 su *Pseudococcidae*, kao što su: *Planococcus ficus* (Rosciglione i Gugerli, 1989; Engelbrecht i Kasdorf, 1990; Ioannou i sur., 1997), *Pl. citri* (Cabaleiro i Segura, 1997; Ioannou i sur., 1997; Golino i sur., 2000), *Pseudococcus longispinus* (Tanne i sur., 1989; Boscia i sur., 1993; Golino i sur., 1995, 2000; Petersen i Charles, 1997), *Ps. calceolariae* (Petersen i Charles, 1997); *Ps. maritimus*, *Ps. affinis* i *Ps. viburni* (Golino i sur., 2000). *Ps. comstocki*, *Ph. aceris*, i štítaste uši (eng. *scale insects*), kao što su: *Pulvinaria vitis* (Belli i sur., 1994), *Neopulvinaria innumerabilis* (Fortusini i sur., 1997), *Parthenolecanium corni*, *Coccus hesperidum*, *C. longulus*, *Saissetia* i *Parasaissetia*, i štítaste uši (eng. *scale*) roda *Ceroplastes*;

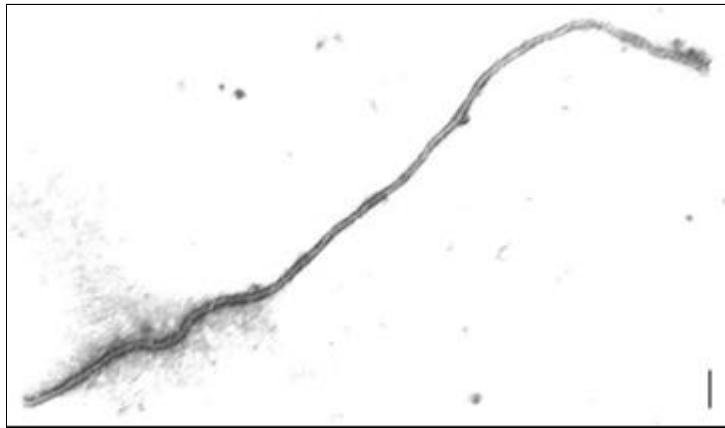
(iii) GLRaV-4 i ostali virusi iz skupine prenose se s: *Ps. longispinus* (soj 5 i 9), *Pl. ficus* (soj 6 i 9) i *Ph. aceris* (sojevi 5, 6 i 9) (Martelli, 2014).

Prijenos je semiperzistentan (Martelli i sur., 1997; Cabaleiro i Segura, 1997; Krüger i Douglas 2013; Mahfoudhi i sur., 2009; Cabaleiro i Segura, 2006; Martelli, 2014), a izgleda da nije specificiran vektorom. Početni su razvojni stadiji ličinke vektora mnogo učinkovitiji u prijenosu virusa od razvijenijih stadija ličinke i odraslih oblika (Petersen i Charles, 1997; Tsai i sur., 2008).

GLRaV-2 je jedini predstavnik *leafroll* skupine koji nema prirodne vektore (Martelli, 2014), lako se prenosi inokulacijom biljnoga soka na zeljaste domačine i to na nekoliko *Nicotiana* vrsta (Monette i Godkin, 1993; Boscia i sur., 1995a; Goszczynski i sur., 1996; Abou Ghanem-Sabanadzovic i sur., 2000).

Usporedno ispitivanje odstupanja sekvenciji aminokiselinske tri taksonomski relevantna proteina/gena: gen za RNA-ovisnu RNA-polimerazu (eng. *RNA dependent RNA polymerase*, RdRp), homolog gena za *heat shock protein 0 (HSP70h)*, gen za protein kapside (eng. *coat protein*, CP) otkrilo je razliku između virusa povezanih s GLRaV-4 (GLRaV-4, -5, -6 i -9) i skupine nedavno opisanih virusa (GLRaV-Pr, GLRaV-De i GLRaV-Car) ispod granice od 25 % koju je nedavno postavio Međunarodni komitet za taksonomiju virusa (ICTV), kao razlikovni kriterij za identifikaciju vrsta u porodici *Closteroviridae* (Martelli i sur., 2012). Naime u početku je regija HSP7h bila jedno mjesto gdje su se tražile razlike između virusa i razlika od 5 % smatrala se dovoljnom da se neki virus uvrsti kao novi. Kasnije je ta granica pomicana na razliku od 10 %, a u posljednjim ICTV objavama ta je razlika 25 %, i uz regiju HSP70h, razlikovni kriterij su: RdRp i CP. Sve to, uz priznanje da su GLRaV-4, -5, -6 i -9 serološki srodni, da imaju slična biološka i epidemiološka obilježja i da ti virusi i GLRaV-Pr,

GLRaV-De, GLRaV-Car imaju genom iste strukture i veličine, podržava ideju da su sve to genetički divergentne varijante jedne virusne vrste, GLRaV-4 (Martelli i sur., 2012). Otkriće da sekvencija nije virusnoga podrijetla, nego dio genoma vinove loze, potaknula je uklanjanje GLRaV-8 iz roda *Ampelovirusa* (Martelli i sur., 2011). Kako bi bile valjane, predložene taksonomske modifikacije moraju se postupno testirati i trebaju ih odobriti različita tijela ICTV-a, a onda ih plenum toga tijela treba ratificirati (Martelli i sur., 2012).



**Slika 1.** Elektronska mikrografija čestice virusa GLRaV-ova (*Grapevine leafroll virus*) izolirane iz vinove loze s uvijenošću lista (linija u donjem desnom dijelu slike označava 250 nm. Izvor: <http://www.cornell.edu>; Photo by Marc Fuchs.

Simptomi koji su obično izazvani umnažanjem virusa u floemu utječu na funkcioniranje vinove loze (Bovey i sur., 1980; Martelli, 1993). Listovi su deblji od normalnih, krhki, mijenjaju boju i uvijaju se prema naličju na marginama. Kod crnih kultivara *V. vinifera*, pojavljuju se crvenkaste točke koje se razvijaju na nižim listovima početkom ljeta. Te se točke povećavaju i spajaju, te većina lisne površine postaje crvenkasta obično ostavljajući uzak zeleni pojas duž osnovnih i srednjih žila (Martelli, 2010).

Simptomi su u kultivarima bijelih bobica slični, ali listovi postaju blago klorotični umjesto crvenkasti. Stabljika lista postaje debela i krhka i savija se nadolje. Ti simptomi napreduju prema vrhu izbojaka kako sezona odmiče. U najtežim slučajevima cijela lisna površina postaje intenzivno purpurna.

Zaraženim lozama nedostaje vigora te imaju odgođenu vegetaciju. Dozrijevanje je bobice nepravilno i može biti odgođeno 2 – 3 tjedna. Uzrokuje slab razvoj boje kod kultivara s crnim bobcima grozdova i nejednoliko sazrijevanje grozdova. Također je zabilježeno da se odgađa sazrijevanje grozdova u trajanju od tri tjedna do mjesec dana (Weber i sur., 1993).

Količina je grožđa često manja (predviđaju se gubici od 20 % pa sve do 85 %) i slabije je kvalitete. Sadržaj šećera može se smanjiti za čak 30 %, a izmijenjeni sastav antocijana i fenola može imati utjecaj na kvalitetu vina (Martelli, 2010). Američke *Vitis* vrste i njihovi hibridi, koji se koriste kao podloge, osjetljivi su na infekciju GLRaVs, ali ne pokazuju simptome, osim smanjena vigora (Martelli, 1993; Walter i Martelli, 1997). Simptomi variraju s obzirom na kultivar, vrstu virusa i njihove kombinacije (Krake, 1993).

Na primjer, izražene razlike uočene su kod promatranja jačine i opsega međužiloga crvenila, koje je najjače kod loze zaražene GLRaV-3 i sve blaže kod loza zaraženih GLRaV-1 i GLRaV-5 (Gugerli i sur., 1991; Walter i Zimmermann, 1991). Iz francuskih i talijanskih istraživanja poznato je da GLRaV-2 potiče inkompatibilnosti podloge i plemke što je otkriveno cijepljenjem na Kober 5BB. Drugi soj istoga virusa identificiran je u Kaliforniji (SAD) kao kočimbenik u nastanku bolesna stanja poznata kao propadanje mladoga vinograda (Rowhani i sur., 2000; Golino i sur., 2000). Nekompatibilnost plemke i Kobera 5BB i propadanje mladoga vinograda karakteriziraju usporen rast, kržljav i grmovit/žbunast izgled, koji rezultira odumiranjem mladice (Greif i sur., 1995) ili cijepljenih trsova (Golino i sur., 2000).

Atallah i suradnici (2012) koristeći metodu neto sadašnje vrijednosti (eng. *net present value*, NPV) izračunali su ekonomski učinak LR bolesti na *V.vinifera* 'Cabernet Franc' u vinogradu *Finger Lakes (New York, USA)*. Autori su modelirali prihode s jednoga hektara vinograda tijekom 25 godina koristeći različite scenarije reakcija vlasnika na pojavu virusa u vinogradu. Predvidjeli su sadnju vinograda s certificiranim sadnim materijalom ili standardnim sadnim materijalom (s potencijalno 1 % zaraženih trsova) i različitim brzinama rasprostranjenja virusa kao i različitim načinima sprječavanja rasprostranjenja infekcije (bez utjecaja čovjeka, krčenje i podsadiivanje zaraženih trsova, krčenje cijeloga vinograda). U slučaju pojave infekcije i izostanku reakcije vinogradara tijekom 25 godina, ekonomska šteta iznosi od 25.000 do 40.000 \$ ovisno o redukciji prinosa (30 ili 50 %). Autori preporučuju inicijalno korištenje certificiranoga sadnog materijala slobodnoga od virusa jer osigurava najveći ostvareni dohodak usprkos početnoj većoj cijeni.

### 2.1.2. Rod *Velarivirus*

Istraživanje taksonomske strukture familije *Closteroviridae* imalo je za posljedicu stvaranje četvrtoga roda privremeno nazvanoga *Velarivirus*, koji obuhvaća dva ranije nerazvrstana virusa [GLRaV-7 i LChV-1 (eng. *Little cherry virus-1*)] kao i novoopisani CoV-1 (eng. *Cordyline virus-1*) (Martelli i sur., 2012).

GLRaV-7 prvobitno je nađen kod neidentificiranoga albanskog kultivara bijeloga grožđa koji je bio bez simptoma, međutim, izazvao je simptome uvijenosti lista na cijepovima kultivara Cabernet Sauvignon, i na taj način opravdao svoj naziv (Choueiri i sur. 1996; Martelli i sur. 2012).

Sekvencija albanskoga izolata GLRaV-7 nalazi se u bazi GenBank pod oznakama No. Y15987 i EF093187. Virusni genom sastoji se od 16496 nt s 10 otvorenih okvira čitanja (eng. *open reading frame, ORF*). GLRaV-7 ima nitaste čestice duljine 1500-1700 nm (obično su dugi 1500 nm), s unakrsnim povezivanjem i otvorenom strukturom monomera tipičnom za klosterovirusne virione.

Identifikacija GLRaV-7, kao različite vrste uvelike je zasnovana na nepostojanju reakcije antiseruma uzgojena na njegovom CP-u s bilo kojim od šest klosterovirusa koji inficiraju lozu, a koji su bili poznati u to vrijeme (Choueiri i sur., 1996). Djelomično sekvenciranje viralnoga genoma (Turturo i sur., 2000) i njegovo svrstavanje u rod *Velarivirus* zasnovano je na analizi uočenih različitosti tri taksonomski relevantna gena (polomerza, HSP70 i CP) virusa članova rodova porodice *Closteroviridae*.

Originalni albanski izvor (AA42) bio je bez očitih simptoma, ali su simptomi uvijenosti lista izazvani na indikatorima. Nasuprot tomu, grčke i kalifornijske virotične loze s prisutnim GLRaV-7 pokazivale su “vrlo blage“ ili “nesigurne“ simptome *leafrolla* [Avgelisi Boscia, 2001 (prema Martelli, 2012)] ili da su “simptomatski i asimptomatski” bez daljih detalja [Moralesi Monis, 2007. (prema Martelli, i sur. 2012)]. Infekcije GLRaV-7 vrlo često su bez simptoma (Martelli, 2014).

Geografska je distribucija GLRaV-7 prilično široka i obuhvaća europske (Albanija, Armenija, Grčka, Mađarska, Italija, Švicarska), bliskoistočne (Egipat, Palestina, Turska), sjevernoameričke (SAD) i južnoameričke (Čile) zemlje te Kinu [Martelli, 2009 (prema Martelli i sur., 2012)].

### 2.1.3. Rod *Maculavirus*

Virusi toga roda povezuju se sa simptomima iz kompleksa pjegavosti vinove loze (*Fleck complex*) prisutnoga u *Vitis* vrstama. Uzročnici kompleksa pjegavosti vinove loze taksonomski pripadaju rodovima: *Marafivirus* [vrste: GaMaV (eng. *Grapevine asteroid mosaic-associated virus*), GRGV (eng. *Grapevine redglobe virus*)] i *Maculavirus* [vrste: GFkV (eng. *Grapevine fleck virus*), GRVfV (eng. *Grapevine rupestris vein feathering virus*)] i porodici *Tymoviridae* (Martelli, 2014). Virus pjegavosti vinove loze (eng. *Grapevine fleck virus*, akronim GFkV) inficira lozu u vinorodnim regijama svijeta i nalazi se isključivo u floemu zaraženih trsova (Martelli i Boudon-Padieu, 2006). Ostali uzročnici iz toga kompleksa determinirani su u malom broju zemalja (Martelli, 2014).

Prijenos virusa vektorima nije poznat ni za jednu vrstu toga kompleksa (Martelli, 2014). Uglavnom se prenosi unosom zaražena sadnog materijala i ne može se prenositi mehaničkim putem. Na trsovima kultivara *Vitis vinifera* i većine američkih *Vitis* vrsta kao i hibrida podlogu GFkV je obično latentan, s izuzetkom *V. rupestris* kod koga na mladim listovima uzrokuje blago prozirne točkice ili mrlje. Listovi s velikim brojem točaka, promjera od 1 do 3 mm, mogu se naborati i smežurati. Kod indeksiranja na *V. rupestris* simptomi uzrokovani GFkV mogu se često zamijeniti s onima uzrokovanim virusom GFLV, naročito ako je indikator zaražen s oba virusa (Martelli i sur., 2002; Fauquet i sur., 2005).

Viron ima oblik poliedra i sadrži jednu linearnu jednolančanu RNA pozitivna polariteta [eng. *single-stranded RNA, ssRNA*; jIRNA]. Virusna kapsida sastavljena je od jedne vrste proteina relativne molekularne mase 56000 (Mr). Za GFkV infekcije karakteristična je pojava teških modifikacija strukture mitohondrija nazvane multivezikularna tijela (eng. *multivesiculate bodies*). Te izmijenjeni organeli smatraju se mjestima replikacije virusa (Martelli, 2014).

*Fleck* je širom svijeta rasprostranjena bolest koja može snažno utjecati na razvoj korijena podloge cijepa (Triolo i Materazzi, 1986). Bolest pjegavosti je latentna u europskim kultivarima, ali i u većini američkih podloga. Simptomi su izraženi kod *Vitis rupestris*, a sastoje se od prosvjetljenja žila trećega i četvrtoga reda, ali i pojave lokaliziranih prozirnih točkastih kloroza te mrlja. Listovi s velikim brojem točaka, promjera od 1 do 3 mm, mogu se naborati i smežurati. Zaostajanje u rastu također može bit posljedica prisutnosti virusa (Martelli, 1993). Uzročnik bolesti nalazi se samo u floemu (eng. *floem limited*) i nije mehanički prenosiv. Radi se o izometričnom virusu, promjera 30 nm koji sadrži ssRNA molekulu (Boscia i sur., 1991). Vektori nisu poznati, pa je glavni način rasprostranjenja

bolesti zaraženim sadnim materijalom. Nedavno su prikupljeni dodatni dokazi o prirodnom rasprostranjenju bolesti na terenu (Fortusini i sur., 1996). *V. rupestris* je korišten kao indikator (Martelli, 1993). Za detekciju toga virusa mogu se koristiti metode ELISA i ISEM (eng. *immuno scanning electron microscopy*) (Boscia i sur., 1991), a sintezom cDNA GFkV je također uspješno otkriven tehnikom RT-PCR, ali i radiografski (Šabanadžović i sur., 1997; Šabanadžović i sur., 2000).

#### **2.1.4. Rodovi *Vitivirus* i *Foveavirus***

Nastanak simptoma naboranosti drveta vinove loze (*grapevine rugose wood*, RW) pripisuje se pripadnicima roda *Vitivirus* (Martelli i sur., 1997a) i jednom pripadniku roda *Foveavirus*. Posebice simptom izbrazdanosti Kobera (*Kober stem grooving*, KSG), koji je usko povezan s A virusom vinove loze (*Grapevine virus A*, GVA; Slika 2.) i simptomi plutavosti kore (*Corky bark*, CB) povezani s *Grapevine virus B* (GVB) infekcijom (Garau i sur., 1994; Bonavia i sur., 1996) te simptom izžljebljenosti drveta hibrida LN-33 (*Grapevine LN33 stem grooving*), dok se simptom jamičavosti drveta vinove loze povezuje s virusom *Grapevine rupestris stem pitting associated virus* (GRSPaV) iz roda *Foveavirus*.

Virusi toga roda pripadaju familiji *Betaflexiviridae* (ICTV, 2009). Virusi su nitastoga oblika. Ima ih u svim vinorodnim regijama. Njihov genom predstavlja linearna pozitivna jednolančana RNA (*Corky bark*, CB). Svi se prenose zaraženim sadnim materijalom, dok se GVA i GVB prenose i insektima iz porodica *Pseudococcidae* i *Coccidae*, a njihov detaljan prikaz je u Tablici 1. (Martelli, 2010). Bolest se može manifestirati kroz zakašnjelo pupanje, mladice obložene debelom grubom korom i prisutnost jažica i uzdužnih utora ispod kore mladica ili podloge, ovisno o različitim kultivarima vinove loze. GVB se dovodi u vezu s plutastom smežuranošću drveta (*Corky bark*, CB), ali pretpostavka je da to nije jedini uzrok te bolesti (Boscia, 1995).

**Tablica 1.** Bolesti kompleksa rugozna drveta, njihovi uzročnici i vektori

<b>Bolesti</b>	<b>Uzročnik</b>	<b>Vektor</b>
<i>Rupestris stem pitting</i>	GRSPV	Nepoznat
<i>Kober stem grooving</i>	GVA	<i>Planococcus citri</i> , <i>Pl. ficus</i> , <i>Pseudococcus longispinus</i> , <i>Ps. affinis</i> , <i>Heliococcus</i> <i>bohemicus</i> , <i>Phenacoccus</i> <i>aceris</i> , <i>Neopulvinaria</i> <i>innumerabilis</i> , <i>Parthenolecanium corni</i>
<i>Corky bark</i>	GVB	<i>Pl. ficus</i> , <i>Ps. longispinus</i> , <i>Ps. affinis</i> , <i>Phenacoccus aceris</i>
<i>LN33 stem grooving</i>	Nepoznat	Nepoznat
<i>Rugose wood-like</i>	GVE	<i>Pseudococcus comstocki</i>

Virus GVA povezuje se sa smežuranosti drveta tipa Kober (*Kober stem grooving*, KSG) (Garau i sur., 1994) i bolešću Shiraza (*Shiraz disease*, SD) u Južnoj Africi (Goszczynski i Joosten, 2003). Neka od novijih istraživanja dovode u blisku vezu SD sa zarazom *A-virusom vinove loze* (GVA) i to sa sojevima koji pripadaju drugoj skupini, dok se predstavnici prve i treće skupine ne dovode u vezu s tom bolešću, nego se smatraju tzv. blagim ili asimptomatičnim sojevima (Goszczynski, 2007; Goszczynski i sur., 2009). GVA uzrokuje *stem grooving* u Kober 5BB, ali ne uzrokuje simptom na LN33 i *Vitis rupestris* (Savino i sur., 1989).

GVA uzrokuje gubitke prinosa od 5 % do 22% u različitim vinskih kutivarima (Garau i sur., 1997), a smanjenje prinosa i uginuće stolnih kultivara vinove loze koji su zaraženi i *leafroll* virusima (Digiario i sur., 1997).

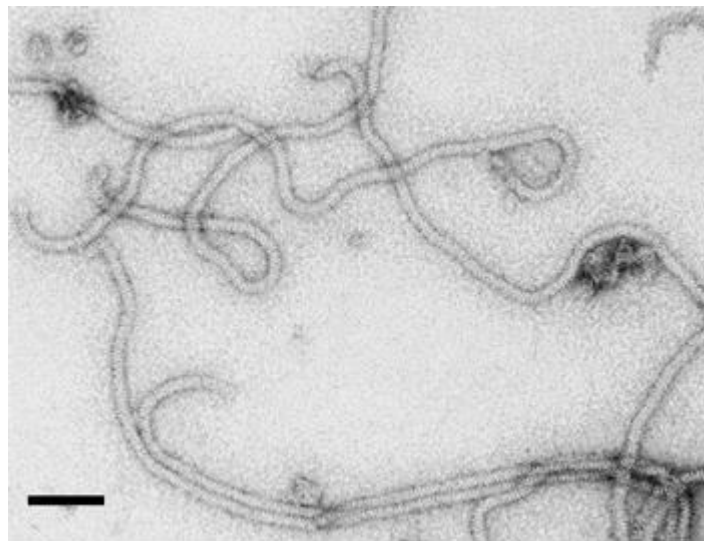
U trsovima inficiranim i s GVA i s *leafroll*-povezanim virusom 1, listovi brzo stare s posljedičnim gubitkom pigmenata, topivih proteina, proteina RuBPC i sniženom fotosintetskom aktivno šću, što je zabilježeno kod *V. vinifera* 'Marzemino' (Malossini i sur., 2003).

Poznato je nekoliko sojeva GVA koji se razlikuju biološki (Monet i James, 1990) i molekularno. Molekularne varijante svrstavaju se u tri grupe koje se selektivno mogu identificirati pomoću RT-PCR koristeći varijante specifičnih početnica (eng. *primer*). Pojedinačni trsovi mogu biti istodobno zaraženi s više od jednoga soja (Goszczynski i Jooste, 2003).



Glavna su fizikalno-kemijska svojstva i genomska organizacija GVA slična ostalim članovima roda *Vitivirus* (GVB, GVD, GVE, GVF). Taj je virus serološki u dalekom srodstvu samo s virusima GVB i GVD, međutim oni se međusobno lako mogu razlikovati (Boscia i sur., 1992; Goszczynski i sur., 1996; Choueiri i sur., 1997). Izvještaji o fitosanitarnom značaju GVA pokazuju da je taj virus prisutan u većini glavnih vinorodnih zemalja, te da ne predstavlja fitosanitarni rizik. Međutim preporučeno je da se samo za certificirani *virus-free* sadni materijal uvrsti testiranje kao obveza u nacionalnoj i međunarodnoj trgovini.

GRSPaV je povezan s jamčivosti na *Rupestrisu* (*Rupestris stem pitting*, RSP; Meng i sur., 1998), kao i s bolešću nekroza lisnih žila vinove loze (*Vein necrosis*, VN; Bouyahia, 2006), te s propadanjem kultivara Syrah u Kaliforniji (Lima i sur., 2006).



**Slika 2.** Elektronska mikrografija čestica virusa *Grapevine virus A* (GVA). Linija u donjem lijevom dijelu predstavlja 100 nm.

Izvor:<http://www.dpvweb.net/dpv/showfig.php?dpvno=383&figno=06>).

### 2.1.5. Rod *Nepovirus*

Rod *Nepovirus* nazvan je po svojstvima virusa koji pripadaju tom rodu, kao što su: prijenos oblicima (**NE**matodama) u tlu i poliedrična oblika virusnih čestica (**PO**liedar). Danas su tu još i virusi koji se prenose grinjama npr. *Blackcurrant reversion virus* (BRV) ili virusi za čije prenošenje nije potreban vektor. Prema nedavnoj klasifikaciji roda *Nepovirus* on pripada redu *Picornavirales*, porodici *Secoviridae* i podporodici *Comovirinae* (Sanfançon i sur., 2009). Zajedno s ArMV-om odgovoran je za infektivne degeneracije, najteže virusne bolesti vinove loze: degeneracije (*fanleaf disease*) i propadanja (*grapevine decline*).

Degenerativno stanje uzrokovano europskim nepovirusima obično je poznato kao '*fanleaf disease*', dok usporedivi poremećaj izazvan američkim nepovirusima naziva se propadanje vinove loze (*grapevine decline*) (Martelli, 1993 i 2014). Nekoliko europskih nepovirusa (ArMV, GFLV, TBRV, GCMV) uključuje deformirajuće i kromogene sojeve. Deformirajući sojevi izazivaju deformacije i smanjenje veličine listova, razne uzorke kloroza, skraćivanje i nepravilan razvoj internodija, dvostruka koljenca, fascijacije/sraslice, smanjenje broja i veličine grozdova, pucanje bobice i *coulure* (oštećenja bobica). Infekcija je putem kromogenih sojeva prvenstveno karakterizirana svijetlim krom žutim diskoloracijama lišća (Martelli, 2010).

Vinova loza (*Vitis vinifera* L.) je domaćin 15 različitih vrsta iz roda *Nepovirus* i jedne vrste pripadnika porodice *Secoviridae* (vrsta *Strawberry latent ringspot virus*, SLRSV). S izuzetkom GFLV-a, koji je svugdje prisutan, svi ti virusi imaju ograničenu geografsku distribuciju. Tako se ističu **europske nepovirusne** vrste [*Grapevine degeneration – European nepoviruses*; npr. GFLV, *Arabis mosaic virus* (ArMV), *Tomato black ring virus* (TBRV), *Grapevine chrome mosaic virus* (GCMV), *Grapevine Bulgarian latent virus* (GBLV), *Raspberry ring spot virus* (RpRSV), *Cherry leaf roll virus* (CLRV)] te **američke nepovirusne** vrste [*Grapevine decline – American nepoviruses*; npr. *Tomato ring spot virus* (ToRSV), *Tobacco ring spot virus* (TRSV), *Blueberry leaf mottle virus* (BLMV) i *Peach rosette mosaic virus* (PRMV)] (Martelli i Taylor, 1990). Dodatni nepovirusi zabilježeni su u Sjevernoj Africi npr. *Grapevine Tunisian ring spot virus* (GTRSV) u Tunisu (Ouertani i sur. 1991) i Aziji npr. *Grapevine deformation virus* (GDefV) i *Grapevine anatolian ring sot virus* (GARSV) u Turskoj (Digiario i sur. 2003).

Vektori uzročnika tih virusnih bolesti nisu poznati za vrste: CLRV, GARSV, GBLV i GDefV, dok vektori ostalih virusa pripadaju nematodama, nadporodice *Longidoroidea* (Martelli, 2014).

Dvije zasebne čestice poliendričnoga oblika promjera 28 nm grade taj virus, čiji genom čine dvije pozitivno orijentirane molekule jednolančane RNA dužina 7342 (RNA-1) i 3774 (RNA-2) nukleotida. Zajedničko je obilježje virusa toga roda prisutnost tri domene RNA1 poliproteina u redosljedu: helikaza, proteaza i RNA-ovisna RNA polimeraza (replikaza) (HEL-Pro-pol). Ta karakteristika ih razdvaja od rodova *Fabavirus* i *Comovirus*, druga dva člana podporodice *Comovirinae*. Dendrogram temeljen na Pro-Pol aminokiselinskim sljedovima *Nepovirusa* ne podržava trenutačni sastav te skupine i postoji mogućnost da se u

sljedećim godinama rod *Nepovirus* rastavi na nekoliko različitih rodova (Sanfançon i sur., 2009).

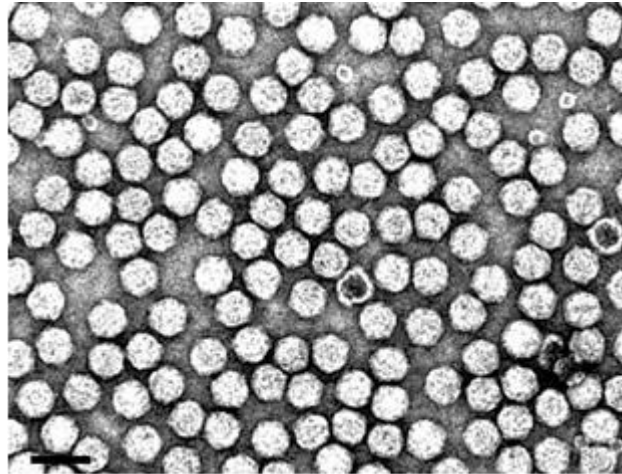
*Nepovirusi* se nalaze uglavnom u umjerenim klimatskim područjima diljem svijeta. Postoje *Nepovirusi* koji uzrokuju zarazu samo jedne biljne vrste, ali i virusne vrste koje mogu zaraziti veliki broj biljnih vrsta (Fauquet i sur., 2005). Mnogi *Nepovirusi* uzrokuju ekonomski važne bolesti različitih kultiviranih biljaka. Oni su obično ograničene na određeno zemljopisno područje ili kontinent. Najtipičniji su znakovi zaraze *Nepovirusima* prstenaste kloroze na lišću, što se može vidjeti u proljeće, kao i drugi oblici kloroze. Mnoge divlje biljke zaražene su *Nepovirusima* i neke od njih ne razvijaju simptome nakon zaraze, što upućuje na mogućnost prilagodbe biljaka na virus. Pojava i priroda simptoma ovisi o vrsti biljaka, o vegetacijskoj sezoni (Kurstaki, 1981), ali i o interakciji biljka – domaćin. Te interakcije često nisu dio „prilagodbe“, nego su utjecaj svakoga sudionika zasebno, a dugom koevolucijom bilje i virusa dolazi do razvoja tavih interakcija i selekcija koje su najpovoljnije za opstanak oba sudionika interakcije, što može biti vidljivo kao asimptomatične zaraza.

Glavni simptomi bolesti uključuju *fanleaf*, lisni mozaik, skraćene internodije i kod kromogenih sojeva tešku lisnu klorozu. GFLV se prenosi ektoparazitskim nematodama *Xiphinema index*, kao i vegetativnim razmnožavanjem i cijepljenjem. GFLV uzrokuje degeneracije i malformacije bobica, listova i mladica/rozgvi, i odgovoran je za značajne ekonomske gubitke jer smanjuje urod i do 80 %, skraćuje vijek vinograda te mijenja kvalitetu grožđa (Andret-Link i sur., 2004; Martelli i Savino, 1990.; Raski i sur., 1983).

GFLV je nazvan po obliku lišća zaražene loze koji imaju abnormalnu raspodjelu žilnoga tkiva (kutovi se između glavnih žila smanjuju), što im daje izgled lepeze (Pearson i Goheen, 1998). Glavni je prirodni domaćin GFLV vinova loza. Prisutnost je virusa osim u njoj potvrđena metodom RT-PCR i u uzorcima zubače (*Cynodon dactylon* L.) u Iranu (Horvath i sur, 1994; Izadphanah i sur, 2003).

Virus GFLV potiče stvaranje unutarstaničnih citopatoloških vezikularnih struktura (eng. *vesiculate-vacuolate*) koji se kao inkluzivna tijela često nalaze u blizini jezgre. Te inkluzije nastaju zbog proliferacije stanične membrane, unutarstanične reorganizacije i redistribucije te se smatraju mjestima poliproteinskih virusnih procesa i replikacije virusne RNA. Čestice GFLV-a (Slika 3.) često su prisutne u tubularnim strukturama (snopovi, eng. *bundles*) koje se akumuliraju u mjehurićima citoplazme ili jezgre. Endocelularne vrpce (eng. *cordon* ili *trabeculae*) su abnormalne ravne cilindrične strukture pektinskih vrpca koje prolaze

kroz stanični lumen (unutrašnjost stanice) različitih tkiva, a posebno su izražene u traheidama, gdje se pružaju radijalno. Trabekule se lako promatraju u poprečnom presjeku bazalnih internodija, a češće se mogu naći u američkim podlogama nego u europskim kultivarima. Njihova prisutnost može se uzeti kao dokaz virusne infekcije, ali njihova odsutnost ne jamči odsutnost GFLV-a.



**Slika 3.** Elektronska mikrografija čestica virusa *Grapevine fanleaf virus* (GFLV). Linija u donjem lijevom dijelu slike označava 50 nm.

Izvor: <http://www.dpvweb.net/dpv/showfig.php?dpvno=385 &figno=11>.

## 2.2. Pregled dosadašnjih istraživanja na mediteranskom području s posebnim osvrtom na Bosnu i Hercegovinu i Hrvatsku

Na području Bosne i Hercegovine na viruse GFLV i GLRaV upozoravano je još prije tridesetak godina (Festić i Šutić, 1977). Autori su izvjestili o promjenama vinove loze koje uzrokuju navedeni virusi (deformacije pojedinih organa, smanjena vitalnost, prerano odumiranje trsova, slabija oplodnja i prorjeđivanje grozdova, malformacije listova, asimetričnost i redukcija veličine lista). Buturović i Klindić (1977), kroz dvogodišnje virološko-nematološko istraživanje, ukazuju koje su vrste nematoda i u kojoj mjeri zastupljene u hercegovačkim vinogradima. Nakon radova iz 70-ih godina prvi važniji rad nalazimo u 2007. godini, kada je provedeno prvo testiranje metodom ELISA na 76 uzoraka (autohtoni kultivari: Blatina, Žilavka, Bena, te alohtoni kultivari: Vranac, Gamay, Moldavia, Smederevka) (Delić i sur. 2007). U istom radu izvješćuje se o prisutnosti GLRaV-1 i -3 na autohtonim kultivarima vinove loze na području Bosne i Hercegovine. Naknadno su uslijedila serološka istraživanja u kojima je testirano 39 uzoraka Blatine i Žilavke na prisutnost 4 virusa: GLRaV-1, GLRaV-3, GFLV i ArMV (Lasić i sur. 2010). Istraživanje je bilo provedeno u komercijalnom vinogradu na trsovima s dobrim gospodarskim svojstvima koji nisu pokazivali vidljive znakove virusnih zaraza. Ukupno je 92,3 % testiranih trsova bilo virotično, što predstavlja vrlo visok stupanj zaraze. U 91,66 % uzoraka utvrđen je GLRaV-3. Učestalost pojave GFLV bila je 30,55 % dok ArMV nije nađen.

U Bosni i Hercegovini do sada nije sustavno vršena provjera zadržavanja stanja vinograda, niti su obavljena cjelovita virološka istraživanja na autohtonim kultivarima temeljena na suvremenim dijagnostičkim metodama.

Prva istraživanja u Hrvatskoj vezana su za infektivnu degeneraciju vinove loze na području Istre započela su 50-ih godina 20-og stoljeća (Šarić i Corte, 1959). Autori Šarić Sabadoš i Corte 1959. godine istaknuli su da su simptomi skraćena internodija, dvostrukoga nodija, fascijacije, rasta internodija cik-cak, zaostajanje u rastu (kržljivost) i promjene tipa mozaika na listovima, panaširanosti ili deformacija, vanjske promjene koje ti virusi uzrokuju na zaraženim biljkama. Šarić (1960) godinu dana kasnije iznosi činjenicu da bolest infektivne degeneracije nije rasprostranjena samo u Istri, nego i u drugim krajevima Hrvatske uzrokujući sporo ali sigurno propadanje vinove loze, napomenuvši da se na tu činjenicu ne smije gledati s nepovjerenjem i ravnodušnošću, nego da se trebaju poduzeti stoge mjere kako bi se zaustavilo

njezino rasprostranjenje. Sljedeći je objavljeni rad iz 1963. godine autorā Panjana i Šarić koji su radili na mogućnosti dijagnosticanja ArMV-a. Kao rezultat ističu pozitivne reakcije dobivene kod talijanske Graševine i Kraljevine. Šarić i Hranueli (1977) provode istraživanje na autohtonim kultivarima u priobalnom području te podlogama, gdje je kao dominantan izoliran virus lepezastog lista vinove loze (GFLV). Istim istraživanjem navedeni virus utvrđen je i u kontinentalnom dijelu Hrvatske i to u velikom broju važnijih vinskih sorata i podloga.

Pored istraživanja na autohtonim kultivarima, istraživanja su provedena i na podlogama. Istraživanja provedena u rasadniku Mladina (Jastrebarsko) na podlozi Kober 5BB pokazala su relativno nizak stupanj zaraze GFLV-a, te virusima uvijenosti lista vinove loze. Od 634 testirane podloge Kober 5BB, samo njih 11 (1,74 %) bilo je zaraženo s GFLV-om, dok zaraza virusima uvijenosti lista kod Kober 5BB od testiranih 514 podloga utvrđena je kod njih 11 (2,14 %) (Topolovec-Pintarić, 1990).

Na povezanost simptoma uvijenosti lista i jamičavosti drveta sa serološki potvrđenim virusima na području Slovenije i sjeverozapadne Hrvatske ukazali su svojim istraživanjima Šarić i Korošec-Koruza 1991. godine. U tom istraživanju kod kultivara Kraljevina i Graševina klonskoga podrijetla utvrđen je visok stupanj zaraze virusom GLRaV-1, a manji s GLRaV-3, dok na kultivarima Glera i Pagadebit nije utvrđena prisutnost virusa iz skupine uvijenosti lista, premda su simptomi uvijenosti lisne plojke prema naličju bili karakteristični. Navedeni autori ističu potrebu za intenzivnim radom na zdravstvenoj selekciji i daljnjim istraživanjima.

Istraživanja zdravstvenoga statusa hrvatskih autohtonih sorata pokazala su da je veliki broj trsova zaražen virusima. Poljuha i suradnici (2004) testiranjem 300 uzoraka sorata iz Istre (Jarbola, Borgonja, Teran, Hrvatica te Muškat Ruža Porečki) utvrdili su da je čak 72,3 % trsova zaraženo s GLRaV-3. Više od trećine uzoraka bilo je istodobno zaraženo s više virusa, a kod sorata Hrvatica i Borgonja nije pronađen niti jedan trs da nije zaražen barem jednim od šest istraživanih virusa.

Peršurić i suradnici (2005) proveli su istraživanje zdravstvenoga stanja šest tržišno najvažnijih autohtonih istarskih kultivara vinove loze koristeći metodu ELISA za detekciju 6 važnih virusa vinove loze (GLRaV-1, GLRaV-3, GFLV, ArMV, GVA). Rezultati te studije ukazuju da su svi istraživani autohtoni kultivari vinove loze iz Istre zaraženi u visokom postotku (87 %) najvažnijim virusima.

Na loše zdravstveno stanje najpopularnije i najzastupljenije crne sorte Plavac Mali ukazuju rezultati testiranja zbirke klonskih kandidata koja se nalazi u sklopu Instituta za jadranske kulture i melioraciju krša u Splitu. Zdunić i suradnici (2007) utvrdili su da je od 116

biljaka testiranih na prisutnost četiri virusa (GFLV, ArMV, GLRaV-1 i GLRaV-3) bez virusa bilo samo njih pet. Dominantni virus bio je GLRaV-3 utvrđen u 90 % uzoraka.

Zdunić i sur. (2008.) potvrdili su vrlo loše zdravstveno stanje i kultivara Prč Bijeli, gdje je od 27 uzoraka testiranih metodom ELISA bez istraživanih virusa bila samo jedna biljka, 25 ih je bilo zaraženo s GLRaV-3, 17 s GLRaV-1, 3 s GFLV-om, dok nije potvrđena prisutnost ArMV-a niti kod jednoga uzorka.

U posljednje vrijeme objavljeno je opsežnije istraživanje zdravstvenoga stanja autohtonih kultivara provedena na širem području Hrvatske, i vezano uz klonsku selekciju (Karoglan-Kontić i sur., 2009a). Testirano je ukupno 1679 uzoraka iz cijele Hrvatske na prisutnost 4 virusa: GFLV, ArMV, GLRaV-1 te GLRaV-3. Provedenim testiranjem metodom ELISA najlošije zdravstveno stanje utvrđeno je na području primorske Hrvatske gdje je zaraza utvrđena u preko 85 % testiranih uzoraka, a po zastupljenosti na području Dalmacije dominira GLRaV-3 koji je pronađen u oko 80 % uzoraka. Na istom području pronađeno je samo 9,8 % nezaraženih trsova, uz napomenu da kod pojedinih sorata nije pronađena ni jedna zdrava biljka. Na području kontinentalne Hrvatske utvrđena je znatno bolja situacija: zdravo je bilo gotovo 50 % testiranih uzoraka, a dominantan je virus na tom području GLRaV-1 koji je utvrđen u oko 45 % uzoraka.

Daljnja istraživanja u 2009. godini (Karoglan Kontić i sur. 2009b) odnosila su se na prisutnost virusa u komercijalnim vinogradima, posebice u biljkama koje nisu pokazivale znakove virusne zaraze. U istraživanje je bila uključena 21 sorta: tri sorte iz kontinentalne Hrvatske (Kraljevina, Škrlet i Graševina), a ostatak iz priobalnoga područja (Borgonja, Hrvatica, Gegić, Petovka, Plavčina, Teran, Topol, Žlahtina, Babica, Crljenak kaštelanski, Debit, Dobričić, Galac, Glavinuša, Gustopupica, Lasina, Ljutun, Malvasija dubrovačka, Mladinka, Ninčuša, Plavac mali, Plavina i Vlaška). Testiran je ukupno 1351 trs, a udio zdravih biljaka bio je između 11 % i 52,04 % ovisno o regiji Republike Hrvatske. Testirano je 75 trsova sorte Škrlet bijeli i kod 84,6 % utvrđena je prisutnost GLRaV-3 virusa, a u sedam biljaka nije bilo istraživanih virusa.

Poljuha i sur., 2010. godine provode istraživanje na 18 istarskih autohtonih sorata, od čega je šest široko rasprostranjeno (Borgonja, Hrvatica, Malvasija istarska, Muškat momjanski, Muškat ruža i Teran), te 12 ugroženih sorata lokalnoga značenja (Anzulana, Brajdenica, Dolcin, Duranija, Garganja, Jarbola, Brajdica, Plavinica, Refošk, Surina, Teran bijeli i Velapergola).

Ukupno je analiziran 781 nasumično odabran uzorak prikupljen s 41 lokacije. Korištena metoda u radu je ELISA. S najvećim postotkom prevladava GLRaV-3 (69,1%),

zatim GFLV (23,9 %), GLRaV-1 (17,2 %) dok ArMV nije pronađen ni u jednom uzorku. Ukupno je bilo zaraženo 82,2 % uzoraka od kojih se kod 69 % radilo o pojedinačnim, a kod 31% o zarazama s više virusa. Učestalost pojave virusa bila je veća na područjima intenzivne vinogradarske proizvodnje (91,8 %), nego kod zemljopisno izoliranih lokacija s ekstenzivnom vinogradarskom proizvodnjom (48,3 %). Kod zastupljenijih sorata stupanj zaraze varirao je između 66,1 % kod Terana i 95,8 % kod Borgonje, dok je kod ugroženih sorata od ukupno 76 uzoraka bilo zaraženo njih 47.

Slijedilo je istraživanje kojim je obuhvaćeno područje Dalmacije: ukupno 51 komercijalni vinograd s 13 autohtonih kultivara, a korištenjem metode DAS-ELISA na dva virusa (GLRaV -1 i GLRaV -3) testirano je 1113 trsova (Vončina i sur., 2009). Postotak infekcije GLRaV-3 je 79,52 % i zaraza tim virusom je široko rasprostranjena kod svih istraživanih kultivara, dok je GLRaV-1 nađen u 40,25 % testiranih trsova. GLRaV -3 nije utvrđen kod kultivara Grk. Istraživanjem je utvrđeno da kod tri autohtona dalmatinska kultivara (Babić, Babica i Ljutun) u relativno velikom broju analiziranih uzoraka s više lokacija nije nađen nijedan zdrav trs, a da razlog tako visokih stopa infekcije posebno u slučaju nekih lokacija i nekih varijeteta tek treba utvrditi (Vončina i sur., 2009). U kaštelskoj regiji na 7 virusa analizirano je ukupno 323 trsa (6 autohtonih kultivara) iz 10 komercijalnih vinograda. Visoka stopa infekcije s različitim virusima kakva je nađena u regiji Kaštela nije potvrđena ni u jednoj drugoj vinogradarskoj regiji Hrvatske. Autori ističu da je obnavljanje prihvatljivoga zdravstvenog statusa germplazme (s obzirom na viruse na koje su testirali: GFLV, ArMV, GLRaV -1, GLRaV -2, GLRaV -3, GLRaV -6, GLRaV -7, GFkV, GVA i GVB) glavni preduvjet za objektivno vrednovanje njezina produktivnog potencijala (Vončina i sur., 2009a, Vončina, 2011). Do sada u Hrvatskoj nisu nađeni virusi -6 i -7 iz kompleksa virusa GLRaV (Vončina, 2011). U literaturi nema podataka da je do sada u Hrvatskoj loza analizirana na viruse GLRaV -4, -5, -6 i -9.

Preiner i sur. (2010.) utvrdili su utjecaj GLRaV-3 na uzgojne karakteristike sorte Grk. Bez obzira što je istraživanje obuhvaćalo relativno mali broj od svega 5 zaraženih i 5 zdravih biljaka, dobiveni rezultati ukazuju da je virusna infekcija imala bitan utjecaj na filometrijske karakteristike, mehaničku strukturu grožđa te pH vrijednost mošta. Kod zdravih biljaka utvrđena je znatno duža peteljka, znatna razlika između dužine pojedinih lisnih žila, te karakteristika lisnoga zupca. Kod mošta zaraženih biljaka utvrđena je povećana kiselost. Budući da je Grk sorta s funkcionalno ženskim cvjetovima, zbog čega nastaju problemi u oplodnji, zanimljiv je rezultat veći udio oplodjenih bobica u masi grožđa kod zaraženih trsova, iako su ukupno gledajući veći prinosi zabilježeni kod zdravih biljaka.



### **2.3. Pregled zakonske legislative u Bosni i Hercegovini i EU o temeljnim čimbenicima kakvoće sadnoga materijala vinove loze**

Proizvodnja sadnoga materijala vinove loze u Bosni i Hercegovini propisana je Zakonom o sjemenu i sadnom materijalu poljoprivrednih biljaka u Bosni i Hercegovini (Službeni glasnik Bosne i Hercegovine, br.03/05), a Pravilnikom o stavljanju u promet materijala za razmnožavanje vinove loze u Bosni i Hercegovini (Službeni glasnik Bosne i Hercegovine, br.50/13) pobliže su utvrđeni uvjeti, detalji i specifičnosti.

Zdravstvena je ispravnost sadnoga materijala vinove loze jedna od temeljnih čimbenika kakvoće i osnove legislative u tom području su Zakon o zaštiti zdravlja bilja (Službeni glasnik Bosne i Hercegovine, br.23/03); Pravilnik o službenom nadzoru sadnoga materijala u Bosni i Hercegovini (Službeni glasnik BiH, br.13/15); Pravilnik o listama štetnih organizama, listama bilja i biljnih proizvoda i reguliranih objekata (Službeni glasnik Bosne i Hercegovine, br.48/13) gdje su u listi IV.A. utvrđeni uvjeti koje mora ispunjavati bilje koje je podrijetlom iz Bosne i Hercegovine (domaća proizvodnja) i koji je u skladu s *Council Directive 2000/29/EC*; te Pravilnik o fitosanitarnom registru i o biljnim putovnicama (Službeni glasnik Bosne i Hercegovine, br.5/13), kao i Pravilnik o izmjenama i dopunama Pravilnika o fitosanitarnom registru i o biljnim putovnicama (Službeni glasnik BiH, br.35/15).

U Bosni i Hercegovini se trenutačno autohtoni kultivari mogu nabaviti isključivo kao standardni sadni materijal CAC kategorije, što bi znači da je sadni materijal vinove loze proizveden prema „zajedničkim načelima u poljoprivredi“ zemljama EU. CAC kategorija je najniža kategorija sadnoga materijala zakonski propisana na području Europske unije. Osim sorte čistoće, CAC sadni materijal mora, barem na temelju vizualnoga pregleda, biti bez parazita i štetnika koji mogu bitno umanjiti vrijednost toga materijala.

Proizvodnja sadnoga materijala u sklopu certifikacijske sheme temelji se na drugačijim načelima.

Za razliku od sadnoga materijala kategorija CAC, proizvodnja certificiranoga sadnog materijala nije obvezujuća u zemljama Europske unije. Nacionalne certifikacijske sheme razlikuju se unutar država članica, ali se sve velikim dijelom oslanjaju na sheme Europske i mediteranske organizacije za zaštitu bilja (EPPO, eng. *European and Mediterranean Plant Protection Organization*).

Vinova loza je prva vrsta koja je postigla EU certifikaciju (Martelli, 2007). Naime certifikaciju sadnoga materijala započeo je *Council of the European Economic community (EEC)* s Direktivom 68/93/EEC pod nazivom *Marketing of vegetatively propagated grapevine material*. Direktiva je dopunjena i promijenjena u 71/40/EEC, no nije bila dovoljno pojašnjena. Nova Direktiva navodila je da matični nasadi za proizvodnju bezvirusna materijala moraju biti slobodni od GLRaV i GFLV, premda certifikacijski program i načini testiranja cijepova nisu definirani. Sve je to dovelo do neujednačenosti i velikih razlika u kvaliteti između zemalja Europe.

Druga je neobičnost EEC Direktive da očigledno postoji mala razlika između “certificiranoga” i “standardnoga” sadnog materijala. Matične biljke za produkciju “standardnog” materijala ne smiju biti zaražene virusima *fanleaf* (GFLV i ArMV) ni virusima *leafroll* (GLRaV-1 i GLRaV-3). Produkti rasadnika moraju biti slobodni od istih bolesti, a kontrole se zasnivaju uglavnom na vizualnim pregledima. To izgleda kao pokušaj ponovna uvođenja kategorije CAC za vinovu lozu (Martelli, 2007<sup>3</sup>). Prijedlog europskih znanstvenika-virologa bila bi nadopuna aneksa Direktive 93/1968: kompleks degeneracije i virusi koji idu uz (degeneraciju), kompleks uvijenosti lista i virusi koji idu uz taj kompleks, kompleks rugoze drveta i virusi koji idu uz pjegavost (*fleck*) te, bolesti izazvane fitoplazmama (Martelli, 2007<sup>2</sup>).

Zemlje koje su prve započele s programima certifikacije su Francuska, Njemačka i Italija (Martelli, 1999). Direktiva 77/629/EEC nadopunjena je obveznim indeksiranjem kao metodom determinacije svih virusa. Dodatno, za degeneraciju vinove loze (GFLV) bilo je potrebno provesti inokulaciju na zeljaste biljke i serološko testiranje. Indeksiranje je zahtijevalo dvije do tri godine da bi se na biljkama indikatorima razvili simptomi i vjerojatnost postizanja bezvirusnoga sadnog materijala bila je malo vjerojatna (Narayanasamy, 2008). ICVG je 1992. godine sažeo certifikacijske programe nekoliko zemalja u jedan standardni certifikacijski program (Johnson, 2003). Spomenuti certifikacijski program prihvatio je EPPO, a nadopunjen je 2008. godine (EPPO Bulletin, 2008).

Međunarodna, nevladina organizacija EPPO, sa svojom prvenstveno savjetodavnom ulogom u fitomedicini, preporuča i sugerira da trenutni sanitarni minimum za proizvodnju sadnoga materijala bude odsutnost sljedećih virusa: GFLV, ArMV, GCMV, RpRSV, SLRV, TBRV, GLRaV-1,-2,-3,-4, GVA, GVB, GRSPV i GFkV (EPPO Bulletin, 2008). S druge strane *European Union Law* Direktivom 2005/43/CE Europske unije, nalaže se da cijepovi

---

<sup>3</sup> Predavanja prof.G.P. Martelli

vinove loze moraju biti negativni na sljedeće viruse: GFLV, ArMV, GLRaV-1 i GLRaV-3, GFkV (samo podloga). Dakle propagativni materijali, bez obzira na to jesu li u komercijalne ili znanstvene svrhe, trebaju strogo biti u skladu s fitosanitarnim propisima koje je donijela direktiva EU br. 2005/43/CE, koja definira što se može nazvati "minimalnim" sanitarnim statusom (Saldarelli i sur. 2012a). Direktivu su usvojile mnoge zemlje EU. Međutim pojedine zemlje dodatno testiraju sadni materijal na određene viruse, npr. u Italiji je Direktiva zamijenjena strožim propisom DM 24/6/2008 (Saldarelli, i sur. 2012a) i sadni materijal podrijetlom iz Italije mora biti negativan i na viruse GVA, GVB, GLRaV-2, GLRaV-7.

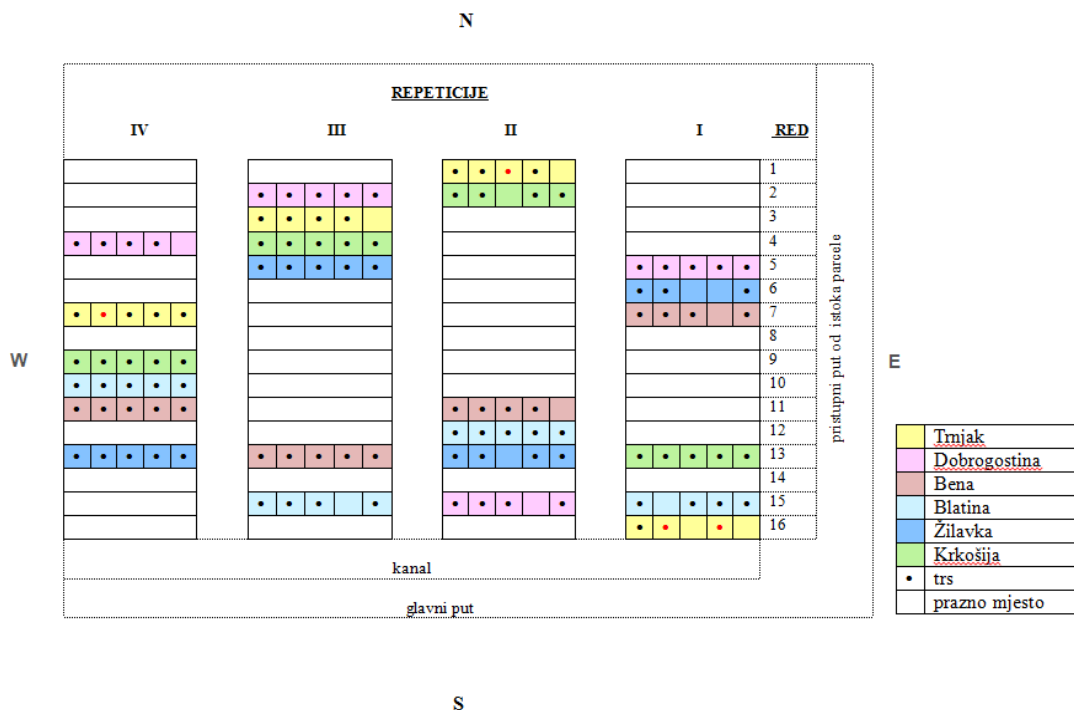
Za regionalne certifikacijske standarde (II klasa) preporuka je testiranje prilagoditi lokalnim uvjetima ovisno o stupnju endemskih zaraza, vinogradarskim uvjetima te potrebama vezanima uz očuvanje autohtone germplazme (Vončina, 2011).

### 3. MATERIJALI I METODE

#### 3.1. Materijali

##### 3.1.1. Kolekcijski nasad

Kolekcijski nasad smješten je na lokalitetu Prokop (Višići), općina Čapljina (mostarsko vinogorje), pri poduzeću „Agroherc“ d.o.o. Čapljina i u vlasništvu je Aronomsko i prehrambeno-tehnološkoga fakulteta Mostar. Individualni trsovi autohtonih kultivara, od čega 6 dominantnih (Dobrogostina, Žilavka, Bena, Krkošija, Blatina, Trnjak; Slika 4.) i 25 lokalnih kultivara/genotipova (Bijela Prošip, Crna Prošip, Dugulja, Lipanjka, Mala Blatina, Blatina stara, Medenka, Menigovka, Plavka, Podbil, Prošip, Rizling, Ruža, Sušćevka, Šilja, Šljiva, Toboluša, Uzbrdnjača, Zlatka, Zložder, Žilavka Žuta, Žilavka stara, Žuičar (uz dva genotipa pod oznakama NN), čine zbirku toga kolekcijskog vinograda s ukupno 31 genotipom. Svi su genotipovi na podlozi SO4 (*V. berlandieri* x *V. riparia*). Način je uzgoja jednokraki ili dvokraki kordonac, uobičajen za uzgojno područje. Svaki genotip sastavljen je od 20 trsova posađenih u bloku od 5 trsova po slučajnom rasporedu. Eksperimentalni je dizajn kolekcijskoga nasada potpuno slučajni blok raspored.



**Slika 4.** Shema rasporeda trsova analiziranih na zarazu virusima u kolekcijskom nasadu Višići.

### 3.1.2. Terenska istraživanja i podrijetlo virusnih izolata (izvor antigena)

Pregledno istraživanje i obilježavanje trsova autohtonih kultivara (Tablica 2.) uključenih u ovu studiju obavljeno je u privatnim vinogradima dva glavna vinogorja Bosne i Hercegovine tijekom rujna 2011. godine.

Biljni materijal bio je sakupljen iz ukupno šest općina (Ljubuški, Čitluk, Grude, Mostar, Čapljina, Stolac), gdje se nalazi većina vinograda u Bosni i Hercegovini. Uzorkovanje je bilo provedeno i u kolekcijskom nasadu, gdje su na jednom mjestu zastupljeni svi kultivari koji se analiziraju u ovoj studiji. Uzorkovanje je također bilo provedeno u 3 komercijalna vinograda uključena u pozitivnu masovnu selekciju koju provodi Federalni agromediteranski zavod Mostar.

Načelo za uzorkovanje bilo je utvrđeno prema podacima Vinogradarskoga katastra Federacije Bosne i Hercegovine (u izradi). Broj uzoraka prikupljenih u svakom izabranom vinogradu određen je uzimajući u obzir sljedeće odrednice:

- a) važnost uzgojna područja,
- b) važnost kultivara u svakoj regiji,
- c) tip vinograda (intenzivan plantažni uzgoj, poluintenzivan plantažni uzgoj, ekstenzivan uzgoj, kolekcijski nasad).

Za svaki prikupljeni uzorak/vinograd prikupljeni su podaci:

1. naziv kultivara,
2. starost biljaka i točna pozicija u vinogradu (tabla, red, prored, položaj u redu),
3. podrijetlo sadnoga materijala,
4. upotrijebljena podloga,
5. glavni problemi/bolesti u vinogradu.

Ukupno 1332 uzorka bilo je prikupljeno tijekom istraživanja:

- I. iz ukupno 20 vinograda (Tablica 3. i Tablica 18. Priloga 2.)
- II. iz jedan kolekcijski nasad (vinograd br. 20 s rasporedom kultivara prikazanim na Slici 4.).

- III. iz osam registriranih vinograda/vinarija (intenzivan uzgoj; vinogradi br. 2.,5.,7., 8.,13.,14.,15. i 16. navedeni u Tablici 3.).
- IV. iz tri vinograda uključena u pozitivnu masovnu selekciju (vinogradi br. 13.,14. i 15. navedeni u Tablici 3.).

Biljni materijal bio je prikupljen od listopada 2011. do veljače 2012. Svaki uzorak sastojao se 2 – 3 reznice dužine 30 – 40 cm, prikupljene s bazalnoga dijela jednogodišnjih, dobro odrvenjelih rozgvi. Uzorkovani trsovi odabrani su nasumično u vinogradu i većina ih nije imala vidljive simptome. Uzorci su bili pohranjeni na 4° C do početka testiranja. Trećina uzoraka testirana je u 2012. godini, dok je radi nedostatka sredstava za nabavu kemikalija ostatak uzoraka testiran u 2013. godini.

Strugotine floemskoga tkiva sa zrelih rozgvi homogenizirane su uz ekstrakcijski pufer i korištene kao izvor antigena.

**Tablica 2.** Glavni autohtoni kultivari u Bosni i Hercegovini i broj uzetih uzoraka za virološke analize.

Naziv Kultivara	Zastupljenost		Boja grozda	Broj	
	kultivara (vodeći ili prateći)	Odrednica kultivara		vinograda s kojih je uzorkovan	Broj uzetih uzoraka
Žilavka	Vodeći	vinska	bijela	6	278
Blatina	Vodeći	vinska	crvena	6	350
Trnjak	Prateći	vinska	crvena	8	309
Bena	Prateći	vinska	bijela	4	166
Dobrogostina	Prateći	vinska/stolna	bijela	5	117
Krkošija	Prateći	vinska	bijela	5	112

### 3.1.2.1. Autentičnost uzoraka

Kod odabira uzoraka uzimana je u obzir sortnost odnosno autentičnost sorte. Sorte Žilavka i Blatina najčešće su zastupljene u vinogradima Hercegovine te zajedno s Krkošijom, Benom i Dobrogostinom (od bijelih) odnosno Alicante Bouschet i Trnjakom (od crnih) čine više od 80 % ukupnih površina (Lasić, 2014). Žilavka i Blatina su sorte poznatih i opisanih svojstava (Bulić, 1949, Vuksanović i sur., 1977, Mirošević i Turković, 2004, Beljo i sur. 2014). Kao polazna točka u potvrđivanju sortnosti korišten je kolekcijski nasad hercegovačkih sorta vinove loze u Višićima koji pripada Agronomskom i prehrambeno-tehnološkom fakultetu Sveučilišta u Mostaru te dostupni opisi hercegovačkih sorta u vinogradarskoj literaturi (Bulić, 1949, Vuksanović i sur., 1977, Mirošević i Turković, 2004, Beljo i sur. 2014). Sorte u tom nasadu profilirane su SSR molekularnim markerima i dijelom su ampelografski opisane (Leko i sur., 2012., Beljo, i sur., 2014., Lasić, i sur., 2015.) u svrhu otklanjanja sinonima i homonima (prof.dr.sc. Jure Beljo, dr.sc. Viktor Lasić, Ana Mandić, dipl.ing.agr. i Marijo Leko, dipl.ing.agr.).

Pri označavanju i uzorkovanju materijala na terenu sudjelovala su i dva ampelografa praktičara: mr.sc. Branko Rogić i Mladen Gašpar, dipl.ing. koji imaju višegodišnje iskustvo u uzgoju i preradi vinove loze, čime se osigurala vjerodostojnost oko sortnosti svih uzoraka ovoga istraživanja („*true-to-type*“).

### 3.1.2.2. Kultivatri u istraživanju

Ovo istraživanje provedeno je na šest autohtonih kultivara s područja Hercegovine. Radi se o kultivarima: Blatina, Žilavka, Trnjak, Bena, Krkošija i Dobrogostina. Za sve kultivare slijede karakteristike: sinonim, podrijetlo, rasprostranjenost, unutar sortna varijabilnost, botanički opis i gospodarsko-tehnološka svojstva što je preuzeto iz Atlasa vinogradarstva i vinarstva Bosne i Hercegovine (Beljo, i sur., 2014).

**Blatina** je autohtoni kultivar Hercegovine. Zbog rizika u oplodnji zovu je Zlorod ili Praznobačva. Ima više hipoteza o njezinu podrijetlu i nazivu. Jedni smatraju da je najprije uzgajana oko Mostara odakle se raširila po Hercegovini i djelomice susjednoj Dalmaciji. Drugi smatraju da potječe iz doline Neretve iz neretvanskoga blata po čemu je dobila ime. Raširena je u cijelom hercegovačkom vinogradarskom kraju kao najvažniji kultivar crnoga grožđa. Zapažene su stanovite razlike unutar kultivara, ali nisu još dovoljno proučene.

Ima veoma bujan trs, vrh je mladice neznatno povijen, ružičastozelene boje, slabo dlakav. List je krupan, petodijelan, sinusi su duboki i preklopljeni, peteljkin sinus je zatvoren i preklopljen. Lišće je tamnozeleno boje, lice lista golo, naličje dlakavo. Rebra pri osnovi crvenkaste boje. Zupci plojke srednji i oštri. Peteljka dugačka, crvena, ali kraća od plojke. Cvijet je funkcionalno ženski, tučak je normalan, ali su prašnici zakržljali i spušteni. Stoga se Blatina mora saditi u smjesi s drugim kultivarima koje će joj biti oprašivači. Grozd: srednje krupan do krupan, ovisno o uspješnosti oplodnje. Oblik je grozda valjkast i piramidalan. Uglavnom je rastresit, ali je pri dobroj oplodnji zbijen. Bobica je obično krupna, ali je u grozdu često nejednake krupnoće zbog neujednačene oplodnje. Okrugle su s tankom i glatkom pokožicom. Boja je pokožice tamnoplava do crna. Meso je bezbojno.

Dozrijeva u III. dekadi. Oplodnja je neredovita zbog specifične građe cvijeta. Ovisno o oplodnji prinos može biti nizak do veoma visok. Dobre rezultate daje uzgojem na toplim i nešto suhljim položajima. Mošt sadrži u prosjeku 18 – 21 % šećera, 6 – 7 g/L ukupnih kiselina. Vino je tamnocrvene boje, aromatično i veoma ugodna okusa, traženo i cijenjeno. Dobra kompatibilnost s podlogama koje se koriste u našem području.

**Žilavka** je autohtoni bijeli vinski kultivar koji se uzgaja na cijelom vinogradarskom području Hercegovine i manjim dijelom u Dalmaciji. U vrijeme bivše Jugoslavije uzgajana je u Makedoniji i na Kosovu. Klonovi u okviru toga kultivara za sada nisu izdvajani iako su zapažene razlike u morfološkim svojstvima. Postoje dva varijeteta koja se razlikuju po boji bobica, nazvani zelenka i žutka. Neki također spominju više različitih klonova. No tek analiza genetskih markera poput AFLP, S-SAP ili SNP može pokazati postoje li genetske razlike među varijetetima i klonovima.

Trs je bujan, vrh je mladice u potpunosti otvoren. Dlačice su na vrhu mladice srednje gustoće. Položaj je mladice na trsu uspravan. List je srednje velik, kružna oblika i petodijelan. Liske se peteljkinoga sinusa preklapaju, ali ne u potpunosti. Baza je peteljkinoga sinusa u obliku slova V i nije ograničena nervaturom. Lice lista glatko i svijetlozelene boja, a naličje dlakavo blijedozeleno. Gornji postrani sinusi su srednje urezani. Peteljka debela, blijedo crvenkaste boje. Cvijet je morfološki i funkcionalno hermafroditan. No ponekad se u cvijetu javljaju anomalije pri otvaranju i na takvim trsovima nema oplodnje, pa ih je dobro precijepiti. Grozd je srednje veličine i srednje dužine. Peteljka je kratka. Grozd je piramidalna ili cilindrična oblika, dosta zbijen. Na grozdu se nalaze 1 – 2 krilca. Bobica je srednje duga i srednje široka. Oblik bobice je sferni. Boja pokožice je zelenožuta, a na suncu zlatnožuta.



Pokožica je žiličasta, pa otuda teorija da je sorta po tome dobila ime. U bobici su u prosjeku tri sjemenke i nisu u potpunosti razvijene.

Dozrijeva u III. dekadi, pa je srednje kasna sorta. Oplodnja je normalna i redovita i prilično je prinosa sorta. Sadržaj šećera u moštu varira 19 – 24 %. Vino Žilavke je visoke kakvoće s izraženom aromom, zelenožute boje.

**Tnjak.** Smatra se autohtonom sortom Dalmatinske zagore odakle se proširila u Hercegovinu. Ima zabilježene sinonime: Trnak, Kovačuša i Rudežuša. Gaji se oko Imotskoga, Vrgorca, Gruda, Ljubuškoga, a danas se širi i u ostale dijelove Hercegovine. Postoje razlike između tipova unutar sorte. Veliki trnjak ima duži grozd i krupne bobice, a Mali trnjak ima manji zbijeniji grozd i sitnije bobice. Selekcija unutar sorte nije provedena.

Trs veoma bujan. Vrh mladice poluotvoren i povijen, s jednom do dvije vitice. List je okrugao ili duguljast, slabo urezan, petodijelan, naličje golo, peteljkin sinus zatvoren i u obliku lire. Zupci uspravni. Peteljka lista kratka. Cvijet morfološki i funkcionalno hermafroditan. Grozd je srednje veličine, zbijen, piramidalna oblika. Ima jedno do dva krilca. Bobice su srednje krupnoće, okrugle i modre. Meso intenzivno obojeno, pa može služiti kao bojadiser za Blatinu. Sjemenke potpuno formirane.

Oplodnja redovita, rodost dobra. Dozrijeva u III. dekadi. Najbolje mu odgovaraju tla tipa crvenica, srednje visoko stablo i kratak rez. Ožiljava se dobro, afinitet s podlogama poput Kobera 5BB je dobar. Ima visok sadržaj šećera i obojeno meso. Vino je rubin tamnocrvene boje, jako, puno, harmonično, ugodne arome.

**Bena** je nepoznata podrijetla i smatra se autohtonim hercegovačkim kultivarom. Zabilježen sinonim kultivara je Benac. Bena je raširena po cijelom području Hercegovine kao prateća sorta Žilavki. Varijabilnost unutar kultivara nije proučena.

Trs nešto slabiji nego u Žilavke. Mladica srednje debljine, plosnata, glatka s glatkim dlačicama, zatvoreno žute boje. List srednje veličine, petodijelan, s urezima koji dopiru do polovice plojke i u dnu su zakržljali. Peteljkin sinus otvoren u obliku slova V, često je zatvoren, ali nije preklopljen. Plojka je čvrsta i debela, s lica hrapava, a naličje dlakavo samo na rebrima. Rebra su zelena s obje strane, zupci sitni i tupi. Rub lista savijen na niže. Cvijet morfološki i funkcionalno hermafroditan. Grozd je velik, razgranat, rastresit, piramidalan, obično s jednim krilcem. Peteljka grozda kratka i odrvenjena. Bobice su velike, duguljaste ili jajolike, glatke i prozirne, zlatnožute boje, pokožica tanja nego kod Žilavke. Meso je slatko,

bez izražene arome s 1 – 2 sjemenke. Bobice se vrlo lako osipaju i pri slabijem potresu, što joj je veliki nedostatak. Gospodarsko-tehnološka svojstva: sazrijeva u prvoj polovini rujna. Oplodnja je normalna i redovita. Sorta je za toplije krajeve, jako otporna prema plamenjači i pepelnici. Rodnost je dobra uz kratku rezidbu. Izdržljivija je od Žilavke, pa može uspijevati na slabijim i nepovoljnim položajima.

Mošt sadrži 16 – 22 % šećera i 4,9 – 7,8 g/L ukupnih kiselina. Vino je osrednje kakvoće, jer sadrži manje alkohola od Žilavke. Bena nema slast Žilavke i Krkošije i kao vinski kultivar zaostaje za njima, ali se može miješati s ta dva kultivara. Može se koristiti i u svježem stanju.

**Krkošija** je autohtoni bijeli vinski kultivar Hercegovine. Kultivar ima više sinonima: Krkošija šupljica, Krkošija ptičarka. Postoje još kultivari koje su nosili isti naziv poput Krkošije žute, Krkošije pargave ili Biserke. Raširena je u cijeloj Hercegovini, najviše oko Čitluka, Ljubuškog, Mostara, a u gornjoj je Hercegovini danas skoro nema iako je nekada oko Konjica bila veoma raširena. Širi se oko Trebinja, a ima je i u Dalmaciji. Veoma je heterogen kultivar, jer ima više tipova. No selekcija klonova nije provedena.

Trs je srednje bujan, vrh je mladice povijen u stranu, zelene je boje i blijedo dlakav. Jednogodišnja je mladica debela, rebrasta, glatka sa srednje dugim internodijima. List je srednje velik, stožasta do okruglasta oblika, petodijelan do sedmodijelan, s dubokim urezima. Peteljkin sinus je također preklopljen. Lice je lista tamnozeleno, a naličje blijedozeleno. Zupci su srednje veličine i tupi. Peteljka je lista kratka i srednje debljine. Cvijet je dvospolan, no katkad popraćen s pojavom anomalije u otvaranju cvjetne kapice u vidu zvjezdice, što doprinosi slabijoj oplodnji i zametanju bobice. Grozd je srednje velik, zbijen ili katkad rastresit, stožasta oblika, sa srednje dugom peteljkom. Bobica je okrugla, a ponekad malo sploštena. Pokožica žutozeleno, osrednje debela, s mnogo smeđih točkica. Sok je bezbojan, vinasto-kiselkasta okusa.

Dozrijeva u III. dekadi kao i Žilavka. Oplodnja je neredovita zbog pojave anomalija u građi cvijeta. Nije sigurne rodnosti zbog smjese različitih tipova. Voli propusna tla s dovoljno vlage kakve su crvenice lokaliteta: Brotnja, Dubrava i oko Ljubuškoga. Ne podnosi sušu i suviše mršava tla. Sorta je veoma izdašna u količini šećera, a ima više kiselina od Žilavke. Daje vino zelenkastožute boje, s dosta alkohola, s dobrim ekstraktom, ali je bez arome. U čistom sortnom sastavu nije dobre kakvoće, ali se dobro kombinira sa Žilavkom.

**Dobrogostina.** Nepoznata je podrijetla, može biti iz Hercegovine ili Dalmacije. Uzgaja se na području cijele Hercegovine i u Dalmaciji. Nekada se veoma mnogo uzgajala na području Konjica pod imenom Toboluša. Zabilježen sinonim Toboluša, a po Buliću još se zove Trbljan bijeli i Dragoboština. Međutim analiza genetskih markera pokazala je da Dobrogostina nije srodna s Trbljanom. Zapaženi su različiti tipovi, ali klonska selekcija nije provedena.

Trs je srednje razvijen i srednje bujan. Vrh je zelene mladice tanak, savijen, vunast i jasno zelen. List srednje veličine do velik, okrugao ili duguljast, petodijelan do sedmodijelan, lice zeleno i golo, a naličje malo vunasto, peteljkin sinus široko otvoren, a postrani zatvoreni. Zupci krupni i dugi. Peteljka umjereno duga. Cvijet je morfološki i funkcionalno hermafroditan. Grozd je velik, težak katkad više od kg, piramidalan, rastresit ili srednje zbijen, drška grozda debela i drvenasta. Bobice nejednake, ali većinom velike i po koja srednja, okrugle, žutozelene boje, neprozirne, meke i sočne, pokožica tanka.

Traži duboka i umjereno vlažna zemljišta. Prema bolestima nije jako osjetljiva. Pripada najrodnijim kultivarima. Kako su joj bobice krupne i pune soka, a pokožica tanka, to u vlažnim i kišovitim godinama lako pucaju. Dozrijeva u IV. dekadi. Grožđe je dobro za jelo kao stolna sorta, ali se ne može dugo čuvati. Iz Konjica se u prošlosti kao stolno grožđe velika količina prodavala u Bosni. Mošt sadrži u prosjeku 16 – 19 % šećera i 6 – 8 g/L ukupnih kiselina. Vino je srednje jačine, s 9 – 11 % alkohola i vrlo harmonično.

### **3.1.3. Lokacije uzorkovanja**

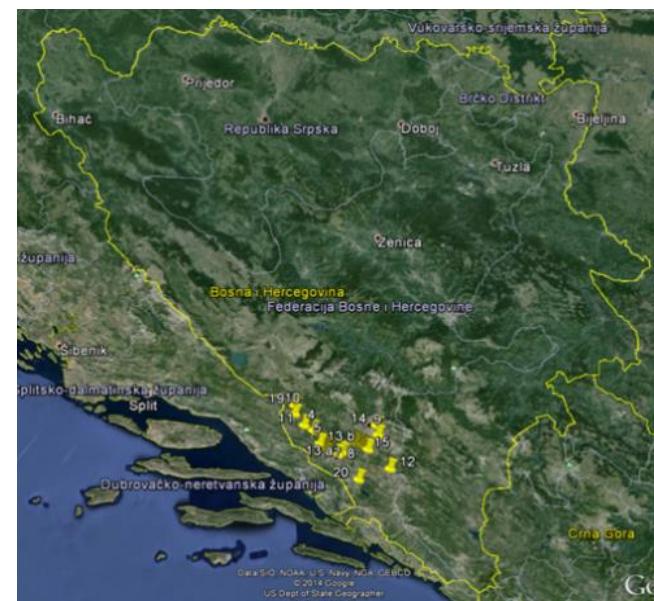
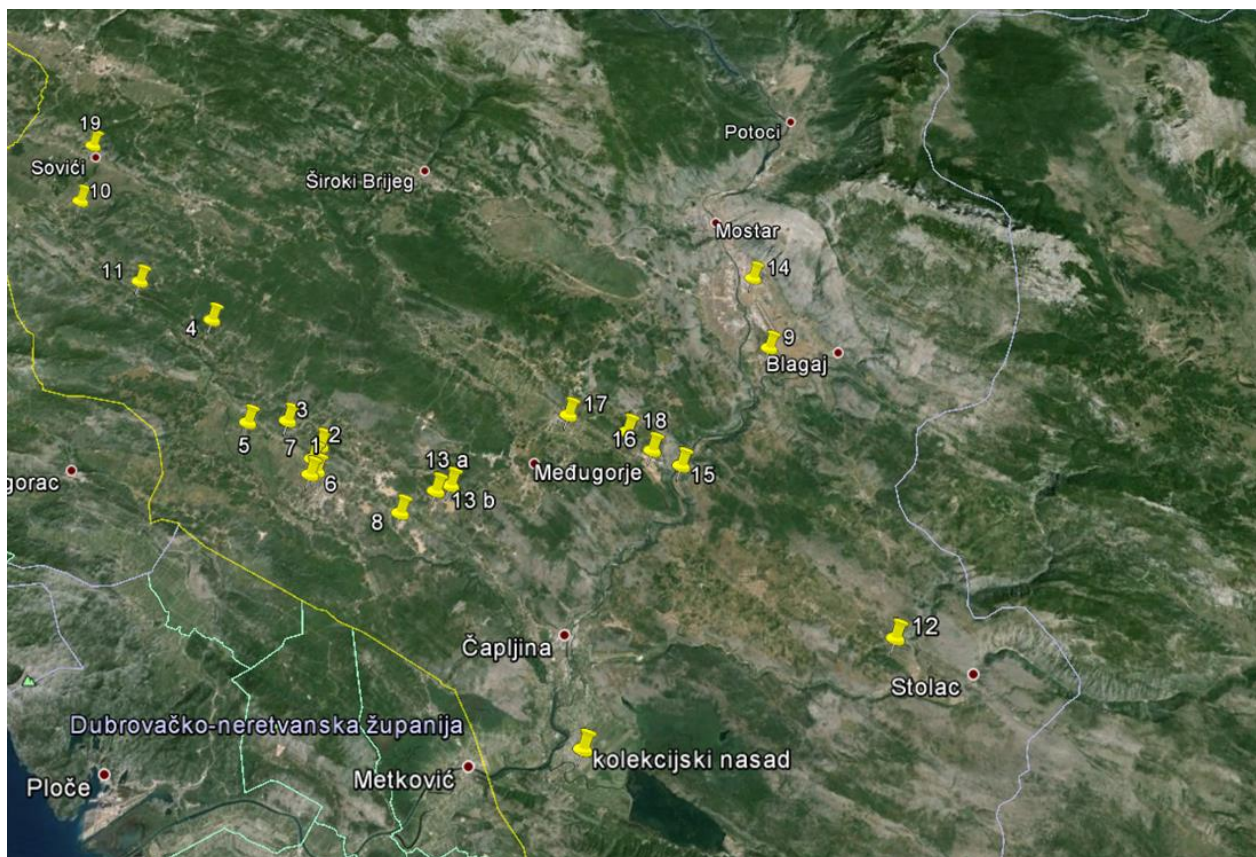
Uzorkovanje se vršilo u vinogradima različite starosti, iz reprezentativnih vinograda šest općina hercegovačkih vinogorja u kojima se uzgajaju šest autohtinih kultivara. Tablica 3. prikazuje redni broj vinograda, naziv kultivara koji se uzorkovao u tom vinogradu i točan broj uzorka. Detaljne informacije o vinogradima (Tablica 3.) prikazane su u Tablici 18. u poglavlju Prilog.

**Tablica 3.** Broj prikupljenih uzoraka po kultivarima i vinogradima.

Oznaka vinograda	Autohtoni kultivar	Broj uzoraka
Vinograd 1.	Krkošija	25
Vinograd 2	Dobrogostin a	33
Vinograd 3.	Dobrogostin a	17
Vinograd 4.	Dobrogostin a Krkošija	47 13
Vinograd 5.	Blatina Trnjak	50 8
Vinograd 6.	Trnjak Bena	23 37
Vinograd 7.	Bena	29
Vinograd 8.	Krkošija	43
Vinograd 9.	Blatina Žilavka	19 17
Vinograd 10.	Trnjak	53

Oznaka vinograda	Autohtoni kultivar	Broj uzoraka
Vinograd 11.	Trnjak	15
Vinograd 12.	Žilavka	29
Vinograd 13	Žilavka Blatina Trnjak	44 50 50
Vinograd 14.	Žilavka Blatina	150 163
Vinograd 15.	Trnjak	94
Vinograd 16.	Žilavka Bena	21 82
Vinograd 17.	Krkošija	10
Vinograd 18.	Dobrogostina	7
Vinograd 19.	Blatina Trnjak	50 50
Vinograd 20.	Žilavka Blatina Trnjak Dobrogostina Krkošija Bena	17 18 16 18 19 18

Točan položaj vinograda iz Tablice 3. prikazan je na Slici 5. Tri vinograda smještena su u općini Grude te su sastavni dio širokobriješkoga vinogorja. Vinogradi smješteni u mostarskom vinogorju su: devet vinograda u općini Ljubuški, a 8 vinograda smješteno je u 4 općine: Čitluk, Čapljina, Mostar i Stolac.



**Slika 5.** Mapa položaja s lokacijama vinograda u kojima su u ovom radu analizirane viroze.

### 3.1.4. Osnovne kemikalije

Pri radu korištene su sljedeće osnovne kemikalije:

1. agarozna (Sigma-Aldrich, SAD)
2. tekući dušik (Messer Mostar, BiH)
3. etanol 96 % (Semikem, BiH)
4. *RNase Free water* 12x1,9 ml (Qiagen, Njemačka)
5. Gel Pilot 100bp Plus Ladder (100) 600 $\mu$ l (Qiagen, Njemačka)
6. Gel Pilot Loading Dye 5x (6x 500 $\mu$ l) (Qiagen, Njemačka)
7. pufer Tris-borat-EDTA (TBE) 5 X (Sigma-Aldrich, SAD)
8. GelRed Nucleic Acid Gel Stain (10,00 x u vodi) i Gel Red (Omni, Sweden)
9.  $\beta$ -merkaptometanol (Sigma-Aldrich, SAD)
10. reakcijska smjesa za PCR-umnožanje (*mastermix*) [5x FIREPol® Master Mix Ready to Load (7.5 mM MgCl<sub>2</sub>), SolisBioDyne, Estonia].

### 3.1.5. Pufferi i otopine

- agarozni gel (1,5 %) – 1,2 g/0,45g agaroze 80 mL/30mL 1XTBE pufer
- etidijev bromid (Sigma-Aldrich, SAD)

### 4.1.6. Oligonukleotidne početnice

Početnice su sintetizirane u tvrtki Eurofins MWG Operon (Ebersberg, Njemačka). U radu su korištene početnice čije su karakteristike prikazane u Tablici 4.

**Tablica 4.** Početnice korištene za PCR-amplifikaciju genomskih segmenata odabranih virusa.

ID početnice	Sekvencija početnice (5'-3')	Ime virusa	Temperatura sparivanja početnice i kalupa ( <i>annealing</i> )	Dimenzija amplikona (pb)	Referenca
GLR2CP1	ATGGAGTTGATGTCCGAC				
GLR2CP2	TACATAACTTCCCTTCTACC	<i>Grapevine leafroll-associated virus-2 (GLRaV-2)</i>	52	600	Abou Ghanem-Sabanadzovic i sur., 2000
LR4-HSP V	ACATTCTCCACCTTGTGCTTTT				
LR4-HSP C	CATACAAGCGAGTGCAATTACA	<i>Grapevine leafroll-associated virus-4 (GLRaV-4)</i>	56	319	Osman i sur., 2007
LR 5HSP V	AACACTCTGCTTTTCTGCTGGCA				
LR5HSP C	TCTCCAGAAGACGGACCAATGTAA	<i>Grapevine leafroll-associated virus-5 (GLRaV-5)</i>	56	273	Osman i sur., 2007
EST-1	TCACAACAGCCTGAACCATCAC				
EST-2	CTCTGTTAGAACCGGACTTATTG	<i>Grapevine leafroll-associated virus-6 (GLRaV-6)</i>	58	350	Abou Ghanem-Sabanadzovic i sur., 2012 i osobna komunikacija Sabanadzovic
LR7G23 met L LR7 G23 met U	TACCACTACCAGGAGGTTTATTCA AATGACTGTGATGTCGCTTTTAC	<i>Grapevine leafroll-associated virus-7 (GLRaV-7)</i>	55	200	Turturo i sur., 2000
LR9-F	CGGCATAAGAAAAGATGGCAC				
LR9-R	TCATTCACCACTGCTTGAAC	<i>Grapevine leafroll-associated virus-9 (GLRaV-9)</i>	58	393	Alkowni i sur., 2004

### 3.1.7. Pozitivne kontrole

Pozitivne kontrole su iz Laboratorija UC DAVIS (*Foundation Plant Services University of California, Davis, SAD*). Dopremljene su kao izolirana ukupna RNA (eng. *total RNA*; TRNA) precipitirana (istaložena) u otopini etanola i natrijeva acetata za viruse: GLRaV-2, GLRaV-4,-5,-6,-7,-9. Prije provedbe analiza trebalo ih je vratiti u otopinu prikladnu za upotrebu u RT-PCR (Prilog 1.).

### 3.1.8. Standard za utvrđivanje DNA molekularne mase (DNA *fragment size*)

U svim elektroforetskim analizama nukleinskih kiselina korišten je marker *GeneRuler™ 100bp DNA Ladder Plus* (Fermentas, USA) koji sadrži 14 fragmenata dužine 3000, 2000, 1500, 1200, 1031, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200 i 100 parova baza (pb).

### 3.1.9. Komercijalni dijagnostički kompleti (*kitovi*)

- *GFLV ELISA kit* (IgG poliklonski za oblaganje, monoklonski konjugat), *ArMV ELISA kit* (poliklonski IgG za oblaganje, poliklonski konjugat), *GLRaV-1 ELISA kit* (monoklonski IgG za oblaganje, monoklonski konjugat), *GLRaV-3 ELISA kit* (poliklonski IgG za oblaganje, monoklonski konjugat), *GLRaV-2 ELISA kit* (monoklonski IgG za oblaganje, poliklonski konjugat), *GLRaV-4-9 ELISA kit* (monoklonski IgG za oblaganje, monoklonski konjugat), *GVA ELISA kit* (poliklonski IgG za oblaganje, poliklonski i monoklonski konjugat), *GfKV ELISA kit* (poliklonski IgG za oblaganje, monoklonski konjugat); po 960 reakcija (Bioreba, Švicarska), kompletni reagensi za dokazivanje virusa metodom ELISA.

- *GfKV ELISA kit* (monoklonski), *GVA ELISA kit* (monoklonski), *ArMV ELISA kit* (poliklonski), *GLRaV-1 ELISA kit* (poliklonski), *GLRaV-3 ELISA kit* (poliklonski), *GLRaV-7 ELISA kit* (poliklonski), *GVB ELISA kit* (monoklonski), po 960 reakcija (Agritest, Italija), kompletni reagensi za dokazivanje virusa metodom ELISA.

- *RNeasy Plant Mini Kit* (Qiagen, Njemačka), kompletan pribor za izolaciju ukupne RNA (eng. *total RNA*, TRNA) iz biljnoga materijala.



- *QIAGEN OneStep RT-PCR Kit* (Qiagen, Njemačka), komplet reagensa za reverznu transkripciju i umnažanje fragmenata virusnoga genoma lančanom reakcijom polimeraze.

### 3.2. Metode

Određivanje pojavnosti viroza detekcijom virusa u prikupljenim uzorcima provedeno je testiranjem trsova sljedećim dijagnostičkim metodama:

- vizualnim pregledom simptoma
- serološkim metodama (ELISA)
- detekcija virusa metodom RT-PCR.

#### 3.2.1. Vizualni pregledi simptoma virusnih zaraza

U kolekcijskom nasadu Višići bila je analizirana simptomatologija. Tijekom dvije proizvodne sezone (2011./12. i 2012./13. g.) bilo je vršeno vizualno praćenje analiziranih trsova. U svakoj sezoni bila su obavljena 4 pregleda (Tablica 5.), prilikom čega su bilježene sve promjene primjećene na: listovima, mladicama, rozgvi, grozdovima, a koje su kasnije povezane s rezultatima laboratorijskih testova (ELISA i RT-PCR). Korišten je program *MS Access (Microsoft, SAD)* za upravljanje prikupljenim i pohranjenim podacima.

**Tablica 5.** Prikaz obavljenih vizualnih pregleda kroz dvije vegetacijske sezone (A 2011./12. i B 2012./13. g.)

Broj pregleda	Datum pregleda	Oznaka fenološke faza	Opis fenološke faze
1A	3.4.2012.	C-D	zeleni vrh pupa – pojava listića
2A	5.6.2012.	H-I	odvojeni cvjetni pupovi – cvatnja
3A	21.8.2012.	L	šarak
4A	8.11.2012.	mirovanje	mirovanje

nastavak Tablice 5.

<b>Broj pregleda</b>	<b>Datum pregleda</b>	<b>Oznaka fenološke faza</b>	<b>Opis fenološke faze</b>
1B	30.3.2013.	C-D	zeleni vrh pupa – pojava listića
2B	4.5.2013.	F-G	pojava grozdića – odvojeni grozdići
3B	4.9.2013.	L	šarak
4B	3.12.2013.	mirovanje	mirovanje

### 3.2.2. Serološke metode za detekciju virusa

Serologija kao odabrana metodologija za dijagnosticiranje virusa, zasniva se na upotrebi virus-specifičnih protutijela. Metoda je vrlo osjetljiva, pouzdana i brza. Zbog svoje pouzdanosti i relativno niske cijene u otkrivanju virusa, posebice u istraživanjima većih razmjera, ELISA je najkorisnija rutinska serološka tehnika (Clark i Adams, 1977) i zbog svoje jednostavnosti i prilagodljivosti jedna od najčešćih metoda detekcije virusa u biljkama (Copeland, 1998). Navedena tehnika naziva se i enzimski imunotest na čvrstoj fazi.

U toj studiji bile su korištene četiri različite izvedbe metode ELISA:

- dvostruka protutijelna sendvič ELISA (**DAS-ELISA**) – BIOREBA i Agritest
- dvostruka protutijelna sendvič ELISA uz prethodno oblaganje mikrotitarskih pločica s proteinom A (**Protein-A DAS ELISA**) – Agritest
- trostruka protutijelna sendvič ELISA (**TAS-ELISA**) – Agritest
- dvostruka protutijelna sendvič indirektna ELISA uz direktno vezanje antigena – (**antigen direct binding DASI ELISA**) – Agritest.

Ekstrakti kortikalnih strugotina iz zrelih rozgvi bili su korišteni kao izvor antigena u testiranju.

### 3.2.2.1. Virusi obuhvaćeni testiranjem metodom ELISA

Nakon prikupljanja uzoraka, oni su testirani na prisutnost deset virusa (Tablica 6.) primjenom metode ELISA. Svaki je uzorak testiran dva puta, tj. nanošen je u duplikatu na mikrotitarsku ploču kao što je bio slučaj i s pozitivnim i negativnim kontrolama nabavljenima kod proizvođača protutijela.

**Tablica 6.** Taksonomski pregled virusa testiranih metodom ELISA (Izvor: ICTV)

Red	Porodica	Potporodica	Rod	Vrsta	
<i>Picornavirales</i>	<i>Secoviridae</i>	<i>Comovirinae</i>	<i>Nepovirus</i>	<i>Arabid mosaic virus</i>	ArMV
				<i>Grapevine fanleaf virus</i>	GFLV
<i>Tymovirales</i>	<i>Tymoviridae</i>	-	<i>Maculavirus</i>	<i>Grapevine fleck virus</i>	GFkV
	<i>Betaflexiviridae</i>	-	<i>Vitivirus</i>	<i>Grapevine virus B</i>	GVB
				<i>Grapevine virus A</i>	GVA
-	<i>Closteroviridae</i>	-	<i>Ampelovirus</i>	<b>Podgrupa I</b>	
				<i>Grapevine leafroll-associated virus 1</i>	GLRaV-1
				<i>Grapevine leafroll-associated virus 3</i>	GLRaV-3
				<b>Podgrupa II</b>	
				<i>Grapevine leafroll-associated virus 4</i> (-4, -5, -6, -9)	GLRaV-4
		-	<i>Closterovirus</i>	<i>Grapevine leafroll-associated virus 2</i>	GLRaV-2
		-	<i>Velarivirus</i>	<i>Grapevine leafroll-associated virus 7</i>	GLRaV-7

### 3.2.2.2. Dvostruka protutijelna sendvič ELISA (DAS ELISA)

Taj je test bio primijenjen za otkrivanje: GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3, GLRaV 4-9, GLRaV -7, GFLV, GVA, ArMV i GFkV i proveden je korištenjem standardnih procedura proizvođača kompleta reagensa (BIOREBA i Agritest). Polistirenske ploče bile su obložene poliklonalnim protutijelima (IgG) razrijeđenim u puferu za oblaganje i inkubirane na 30° C

tijekom 4 sata (za Agritest 2h na 37° C), a zatim su bile isprane tri puta s puferom za ispiranje. U svaku jažicu MTP nanoseno je po 200 µL homogenata uzoraka i ploče su inkubirane na 4° C, preko noći. Nakon novoga ispiranja, bila je dodana mješavina alkalnom fosfatazom konjugiranih protutijela (*antibody-AP-conjugate*) u svaku jažicu po 200 µL, te su ploče inkubirane na 30° C tijekom 5 sati (za Agritest 2h na 37° C). Nakon ispiranja, svježe pripremljeni p-nitrofenil fosfat u supstratnom puferu (1 mg/mL) bio je dodan, po 200 µL u svaku jažicu. Ploče su bile inkubirane na sobnoj temperaturi u tami. Nakon jednoga i nakon dva sata inkubacije, obavljeno je fotometrijsko očitavanje vrijednosti apsorbancije pri 405 nm upotrebom spektrofotometrijskoga čitača mikrotitarskih ploča (opisano u poglavlju 4.2.2.6.).

### **3.2.2.3. Dvostruka protutijelna sendvič ELISA uz prethodno oblaganje mikrotitarskih pločica s proteinom A (Protein-A DAS ELISA)**

Za GVA analize prvi korak postupka sastoji se u presenzibilizaciji mikrotitarske ploče s proteinom A, koji ima visoki afinitet za (FC) frakcije IgGs. To uzrokuje orijentaciju IgGs aktivnom stranom, i time optimizira antigensko vezivanje (Boscia u sur., 1992). Uobičajeni DAS-ELISA postupak slijedi nakon toga.

### **3.2.2.4. Trostruka protutijelna sendvič indirektna ELISA (TAS ELISA)**

Taj se postupak primjenjuje za GFkV (Agritest, Italija). TAS ELISA razlikuje od DAS ELISA zbog upotrebe trećega protutijela u posljednjem koraku. Nakon prva dva slična koraka (*coating* s Pab i dodavanja uzoraka), monoklonalna protutijela u PBS bila su dodana u jažice i inkubirana 2 sata pri 37 °C. Nakon ispiranja, dodano je anti-mišje enzimom markirano (*anti mouse enzyme-labeled*) protutijelo, a ploče su nakon inkubacije očitane pri 405 nm.

### **3.2.2.5. Dvostruka protutijelna sendvič indirektna ELISA uz direktno vezanje antigena (DASI ELISA)**

Dvostruka protutijelna sendvič indirektna ELISA (DASI ELISA) uz direktno vezanje antigena (*antigen direct binding*) bila je korištena za GVB (Agritest, Italija) analizu uzoraka

vinove loze. Kod tih analiza homogenat uzorka prenosi se izravno u jažicu, bez prethodnoga senzibiliziranja s protutijelom. Postupak se nastavlja kao normalna TAS ELISA, dodavanjem monoklonskih protutijela u PBS-u i anti-mišjih protutijela konjugiranih s enzimom (*anti-mouse enzyme-linked*).

### 3.2.2.6. Spektrofotometrijsko očitavanje ELISA rezultata

Očitavanje ELISA rezultata bilo je obavljeno pomoću SUNRISE-ELISA spektrofotometra (TECAN koji koristi Magellan™ *softw* (Švicarska) pri valnoj duljini od 405 nm nakon jednoga i nakon dva sata inkubacije otopine supstrata u supstratnom puferu u reakcijskim bazenima mikrotitarskih pločica. Pozitivnim je bio smatran onaj uzorak čija je izmjerena apsorbancijska vrijednost bila veća od dvostruke vrijednosti apsorbancije izmjerene za negativnu kontrolu.

### 3.2.3. Utvrđivanje prisutnosti virusa metodom RT-PCR

Kako bi se u vinogradima autohtonih hercegovačkih kultivara uključenih u ovu studiju procijenila prisutnost svakoga pojedinog virusa iz grupa GLRaV-4-9, istraživanje je bilo prošireno putem RT-PCR dijagnostičkih tehnika na dio onih uzoraka koji su u testiranju metodom ELISA bili pozitivni korištenjem kompleta za detekciju GLRaV -4-9. RT-PCR je bio primijenjen za provjeru prisutnosti svih virusa grupe GLRaV -4-9 na ukupno 27 uzoraka loze. Za tu svrhu bile su korištene degenerirane početnice dizajnirane na konzerviranom genu *HSP80* iz porodica *Closteroviridae*, posebice *Ampeloviruses* Podgrupa II, *Closterovirus* i *Velarivirus* (Osmana i sur., 2008.; Abou Ghanem-Sabanadzovic i sur., 2012). Svi su uzorci izabrani među onima koji su bili pozitivni u testiranju metodom ELISA, kako bi se utvrdili mogući kandidati za kolekciju pozitivnih kontrola. Cilj tog testa bio je istražiti prisutnost virusa iz navedenih grupa koji su detektirani metodom ELISA u trsovima hercegovačkih kultivara vinove loze.

Ista dijagnostička metoda bila je korištena i za jedan uzorak koji je bio pozitivan na GLRaV-2 u metodi ELISA, a radi otkrivanja drugih mogućih klosterovirusa koji inficiraju hercegovačku vinovu lozu, a nisu do sada istraživani.

U detekciji virusa metodom RT-PCR obavljani su sljedeći glavni koraci:

- ekstrakcija ukupne ribonukleinske kiseline (RNA)
- sinteza virusne komplementarne cDNA i PCR amplifikacija (RT-PCR)
- analiza rezultata elektroforezom (vizualizacija produkta RT-PCR).

### 3.2.3.1. Ekstrakcija ukupne RNA

Iz 27 odabranih uzoraka vinove loze bila je izolirana ukupna ribonukleinska kiselina (TRNA). Za izolaciju se koristio komercijalni komplet kemikalija *RNeasy Plant Mini Kit* prema uputama proizvođača, s malim odmakom u količini/volumenu pojedinih komponenata. Postupak se sastojao od sljedećih koraka:

- Floemsko tkivo svakoga uzorka vinove loze (120 – 150 mg) bilo je stavljeno u sterilni tarionik, a zatim je zaleđeno korištenjem tekućega dušika. Potom je u tarioniku smrvljeno u prah. Zaleđivanjem se biljnoga tkiva tekućim dušikom direktno zaštićuje RNA u biljnom tkivu. Tu je operaciju bilo potrebno što brže završiti pazeći da se biljno tkivo ne odmrzne.
- Dobiveni prah bio je prebačen u mikroeprevete (Eppendorfove epruvete od 1,5 i 2,0 ml gdje se homogenizirao dodavanjem 0,8-1 mL RLT pufera. Pufer RLT je pufer za liziranje stanica, jer je prije upotrebe u njega dodano  $\beta$ -merkaptetanola i to na svaki 1 ml RLT pufera dodano 10  $\mu$ L  $\beta$ -merkaptetanola. S obzirom na hlapljivost i toksičnost  $\beta$ -merkaptetanola taj dio postupka izolacije virusnih molekula RNA bio je obavljan u digestoru. Sadržaj mikroeprevete bio je snažno vorteksiran nekoliko minuta. Denaturacija sadržaja mikroeprevete pospješuje se zagrijavanjem u termomikseru na 56 °C u trajanju od 3 min.
- Dobiveni lizat bio je premješten u namjensku *QIAshredder* minikolonu i podvrgnut centrifugiranju 2 min na najvećoj brzini. Tim korakom odstranjeni su grubi stanični dijelovi i dobivena je tekuća frakcija koja je bila premještena u novu mikroeprevetu (400  $\mu$ L) uz dodatak pola volumena 96 % etanola (200  $\mu$ L).

- Dobivena mješavina bila je premještena u namjensku kolonu s *RNeasy*-silikatnom gel membranom (*RNeasy Mini Spin Columns*), te podvrgnuta centrifugiranju u trajanju od 15 sekundi na 10000 rpm. Tako se ukupna RNA vezala za membranu kolone.
- Kako bi RNA bila što čistija, membranu *RNeasy* kolone potrebno je bilo isprati sa 700  $\mu\text{L}$  RW1 pufera i centrifugirati 15 sekundi na 10000 rpm. U dva navrata korištenjem 500  $\mu\text{L}$  RPE pufera trebalo je ponoviti ispiranje membrane *RNeasy* kolone. Oba centrifugiranja za ta dva ispiranja obavljena su na 10000 rpm. Prilikom se svakoga ispiranja uvijek u završnom koraku odbacilo sve što je prošlo kroz membranu kolone.
- Nakon posljednjega ispiranja, *RNeasy* kolone bile su premještene u novu 2 ml mikrotubu i centrifugirane 1 min pri punoj brzini, kako bi se otklonili ostatci pufera.
- Tako pripremljenu kolonu s membranom bile su premještene u novu mikroeprevete volumena 1,5 mL i dodato je 30  $\mu\text{L}$  vode slobodne od ribonukleaza direktno na membranu kolone čime su s membrane eluirane molekule RNA. Slijedilo je centrifugiranje u trajanju 1 min 10000 rpm da se dobije RNA.
- Ekstrahirane molekule RNA bile su pohranjene na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  do korištenja u daljnim analizama.

### 3.2.3.2. Modifikacija protokola za ekstrakciju ukupne ribonukleniske kiseline (RNA)

Modifikacija je bila napravljena kod uzorka koji je serološki pozitivan na GLRaV-2, na način da je strugotina folemskog tkiva (oko 5 g) homogenizirana s 3 mL RTL korištenjem maceratora/homogenizatora *Homex 6 (BIOREBA)*. Dobiveni homogenat u sljedećem koraku razdijeljen je u dva dijela. Jednom dijelu od 100  $\mu\text{L}$  Sap homogenata dodano je 450  $\mu\text{L}$  RTL i 5,5 merkaptotanol (oznaka 1). Dok je drugom dijelu od 50  $\mu\text{L}$  homogenata u daljnjim koracima izolacije dodano 500  $\mu\text{L}$  RTL i 5,5 merkaptotanol (oznaka 2). Ta dva različita razrjeđenja (oznake 1 i 2) predstavljaju jedan te isti uzorak.

### 3.2.3.3. Sinteza virusnih cDNA i PCR amplifikacija

Kako bi se mogla provesti amplifikacija izoliranih molekula RNA za vrstu specifičnih dijelova genoma primjenom reakcije PCR, potrebno ih je bilo reverznom transkripcijom prepisati u njihovu komplementarnu DNA (cDNA) što je obavljeno primjenom enzima reverzne transkriptaze u protokolu RT-PCR. U ovom istraživanju bio je primijenjen protokol One-Step RT-PCR u kojem su u istoj reakcijskoj smjesi obavljene i sinteza cDNA, i reakcija PCR. Bili su korišteni reagensi (*5xQiagen buffer*, *5xQ-solution*, *dNTP mix*, *enzim mix*) i upute za provedbu reverzne transkripcije i lančane reakcije polimeraze tvrtke *Qiagen*. Volumen mješavine reagensa (tzv. mastermiksa) korišten za dokazivanje svih šest virusa bio je 10  $\mu\text{L}$ , a korišteni sastav mješavina reagensa za svaki pojedini uzorak nalazi se u Tablici 7.

**Tablica 7.** Sastojci reakcijske smjese volumena 10  $\mu\text{L}$  za provođenja dijagnostičke metode RT-PCR u detekciji virusa GLRaV-4-9 primjenom kompleta *Qiagen One Step*.

Reagens u reakcijskoj smjesi (mastermiksu)	Volumen sastojka u smjesi ( $\mu\text{L}$ )
<i>Qiagen OneStep RT-PCR pufer</i> (5x koncentriran)	2,2
<b>Q-Solution</b> (5x koncentrirana)	2,2
<b>dNTP mix</b> (sadrži 10 mM svakog dNTP)	0,44
<i>Qiagen OneStep RT-PCR smjesa enzima</i> ( <i>HotStarTaq DNA Polymerase i Sensiscript and Omniscript Reverse Transcriptases</i> )	0,44
Početnica A (10 $\mu\text{M}$ )	0,55
Početnica B (10 $\mu\text{M}$ )	0,55
Voda bez RNaza	2,4
<b>Ukupno</b>	<b><u>8,8</u></b>
<b>Ekstrakt RNA</b> izoliran iz analiziranog uzorka tkiva vinove loze ( <i>RNA template</i> )	<b><u>2</u></b>
<b>Ukupni reakcijski volumen</b> u reakciji RT-PCR	<b><u>10,8</u></b>



Korišteni reagensi čuvali su se na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , ali su u trenutku stavljanja u reakcijsku mješavinu bili odleđeni, te držani na ledu. Reakcijska smjesa promiješana je uvlačenjem i ispuštanjem otopine pomoću nastavka mikropipete. Nakon što se mješavina reagensa za detekciju određenog analiziranog virusa metodom RT-PCR (po  $8,8\text{ }\mu\text{L}$ ) raspodijelila u mikropruvete, u svaku od njih je dodano, uz miješanje mikropipetiranjem, po  $2\text{ }\mu\text{L}$  ranije izoliranih molekula RNA iz svakoga pojedinog analiziranog uzorka vinove loze.

Konvencionalne lančane reakcije umnožavanja sekvencija uz prethodno obrnuto prepisivanje (RT-PCR) odvijale su se PCR-uređajima (eng. thermocycler; model: *1659 Eppendorf Mastercycler*, Njemačka; te model: *2720 Thermal Cycler Applied Biosystems*, SAD). Za amplifikaciju korištene su specifične početnice za šest virusa (Tablica 4.).

Reverzna transkripcija odvijala se 30 minuta pri  $52\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Zatim je uslijedila denaturacija lanaca i inaktivacija reverzne transkriptaze primjenom temperature od  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  u trajanju od 30 sekundi.

Postupak amplifikacije dobivenih molekula cDNA odvijao se u 35 ciklusa od kojih se u svakom ponavljao sljedeći obrazac:

- denaturacija 30 sekundi na  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$
- sparivanje početnica i kalupa u trajanju od 45 sekundi na temperaturama koje variraju za svaki virus/početnicu (Tablica 4.):
  - $56\text{ }^{\circ}\text{C}$  (za virus GLRaV-4, -5)
  - $58\text{ }^{\circ}\text{C}$  (za virus GLRaV-6, -9)
  - $55\text{ }^{\circ}\text{C}$  (za virus GLRa -7)
  - $52\text{ }^{\circ}\text{C}$  (za virus GLRaV-2)
- ekstenzija, tj. produljivanje lanaca DNA 1 min na  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Nakon posljednjeg, trideset i petog ciklusa provedeno je završno produljenje lanaca DNA u trajanju od 7 minuta pri  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Temperatura na kojoj su se držali produkti u PCR-uređajima nakon završetka amplifikacije bila je  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### 3.2.3.4. Semikvantitativni RT-PCR za GLRaV-2

Nakon izolacije RNA za serološki pozitivan uzorak na GLRaV-2, bila je vršena semikvantitativna konverzija ukupne RNA (izolirane iz uzorka) u jednolančanu komplementarnu DNA (cDNA) korištenjem *High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit* (*Applied Biosystems*, SAD). Za pripremu reakcijske mješavine bile su korištene komponente kita (po reakciji/uzorku): *Aqua bidest*  $\Leftrightarrow$  4,2  $\mu$ L, *10x RT Buffer*  $\Leftrightarrow$  2  $\mu$ L, *10x Random Primer*  $\Leftrightarrow$  2  $\mu$ L, *25x dNTPs Mix*  $\Leftrightarrow$  0,8  $\mu$ L, *Transcriptase*  $\Leftrightarrow$  1  $\mu$ L. Na 10  $\mu$ l reakcijske mješavine dodano je  $\Leftrightarrow$  10  $\mu$ l izolirane RNA.

Tako pripremljena smjesa bila je podvrgnuta prepisivanju u PCR-uređaju (*Thermal Cycler 2720 Applied Biosystems*, SAD). Proces konverzije obavljen je uz temperature: 10 min. na 25°C, 120 min. na 37°C, 5 min na 85 °C. Nakon procesa prepisivanja uzorci su pohranjeni na -20°C do početka analize [prethodno je obavljena provjera vizualizacijom produkata (Slika 13. Priloga 4.)].

Konvencionalne lančane reakcije umnožavanja sekvencija (PCR) bile su provođene u istom PCR-uređaju kao i prethodno opisan korak konverzije/prevođenja RNA u cDNA. Korišten je namjenski mastermiks [*5x FIREPol® Master Mix Ready to Load* (7.5 mM MgCl<sub>2</sub>)] u volumenu od 2  $\mu$ L  $\Leftrightarrow$  s *RNase-free water* 6  $\mu$ L  $\Leftrightarrow$  i specifične početnice (R/F) svake 0,5  $\mu$ L po reakciji. Tako da je konačni volumen bio 9  $\mu$ L reakcijske mješavine uz 2  $\mu$ L cDNA po reakciji.

### 3.2.3.5. Elektroforeza umnoženih produkata u agaroznom gelu

Prisutnost i veličine amplificiranih RT-PCR produkata je provjeren na 1,5 % agaroznom gelu u 1xTBE puferu [40mM Tris baze, 20mM natrijeva acetata, 1mM EDTA (pH 8,0)], uz bojenje s etidijevim bromidom, *Gel Red* (Omni) [4 kapljice na 100-120 mL gela] ili *GelRed Nucleic Acid* (Gel Stain 10x u vodi) i vizualizacijom pod UV osvjetljenjem. Elektroforeza je provedena tijekom 40 min. pri naponu od 70 V, nakon čega su gelovi fotografirani.

## 4. REZULTATI

Tijekom terenskoga istraživanja od listopada 2011. godine do prosinca 2013. godine sakupljeno je 1332 uzoraka u 20 vinograda u kojima su serološki dokazivani virusi (rezultati testiranja metodom ELISA navode se u pogl. 4.1.). Od 1332. uzorka 106 ih je sakupljeno u kolekcijskom vinogradu Višići (vinograd 20., Tablica 3.). Na svim uzorkovanim trsovima u Višićima vršen je monitoring simptoma u okviru 8 obilazaka terena kroz cijelo razdoblje istraživanja (rezultati su predstavljeni u pogl. 4.3.). Odabranih 27 uzoraka pozitivnih u testiranju metodom ELISA na neki od virusa GLRaV-4-9 i jedan uzorak pozitivan na GLRaV-2, testirano je na te viruse primjenom RT-PCR metode (pogl. 4.2.).

### 4.1. Rezultati serološke detekcije virusa

Učestalost pojave 9 virusa (ArMV, GFLV, GFkV, GLRaV -1, GLRaV -2, GLRaV -3, GLRaV -4-9, GVA, GVB) u 20 vinograda na 6 autohtonih hercegovačkih kultivara u 2 hercegovačka vinogorja, evaluirana je pomoću ELISA metoda. Korištenjem komercijalnih kompleta reagensa provedene su ELISA metode (DAS ELISA, Protein A DAS ELISA, TAS-ELISA, *antigen direct binding* DASI ELISA) kojima su detektirani svi navedeni virusi osim virusa GVA i GVB. Detaljan prikaz zaraze istraživanih kultivara, pojedinim virusnim vrstama utvrđenim u 20 vinograda/lokacija nalazi se u Tablici 8. Pregled rezultata testiranja metodama ELISA koji se odnosi na 1332 uzoraka testiranih na viruse u ovom radu prikazan je u okviru Tablica 8. – 11. te za kolekcijski nasad Višići još detaljnije u Tablici 26. Priloga 4. Pregled broja biljaka slobodnih od svih istraživanih virusa (*virus-tested*), kao i onih zaraženih samo jednim virusom te onih istodobno zaraženih s dva ili više virusa (mješovite zaraze) nalazi se u Tablici 9. Podaci o učestalosti pojave virusa i tipu zaraze (jednostruke ili miješane) prikazani su u Tablici 10. Tablica 11 prikazuje sanitarni status šest autohtonih kultivara u hercegovačkim vinogradima s obzirom na pojavnost 9 virusa obuhvaćenih ovim istraživanjem.

Rezultati pokazuju visoku učestalost zaraženih trsova (86,56 %) i veći broj višestrukih (45,73%), u usporedbi s brojem pojedinačnih (40,99 %) virusnih zaraza. Virus s najvećim postotkom učestalosti bio je virus GLRaV-3 iz roda *Ampelovirus*, a slijedi ga virus GFLV iz roda *Nepovirus*. Potom su sljedili ostali uzročnici LR iz roda *Ampelovirus*, i to GLRaV-1 koji je bio češće detektiran od GLRaV-4-9. GLRaV-4-9 bio je odmah iza virusa GFkV iz roda

*Maculavirus* koji je na trećem mjestu po broju nalaza. Nasuprot tomu ArMV (još jedan član roda *Nepovirus*) imao je manju učestalost, a GLRaV-2 (član roda *Closterovirus*) bio je rijedak, dok GVA i GVB iz roda *Vitivirus* nisu nađeni ni u jednom od analizirana 1332 uzorka.

Podaci o brojnosti nalaza virusa i pojavnosti virusnih zaraza (jednostruka ili miješana) prikazani su u Tablici 9. Bez obzira na različite kultivare i vinograde istraživanje pokazuje visoku učestalost prisustva virusa čiji nalazi su bili relativno brojni i kretali su se od 0,23 % za kombinaciju od pet virusnih vrsta do 40,99 % za pojedinačne infekcije s jednim od ukupno 7 utvrđenih vrsta virusa.

Vidljivo je da je od 546 trsova s pojedinačnim infekcijama prisutnost GLRaV-3 utvrđena u 349 trsova, što predstavlja najveću učestalost pojave neke od virusnih vrsta u ovom istraživanju (Tablica 10.). Potom slijedi 200 trsova s kombinacijom GLRaV-3⇔GFLV (15,02 %). Nakon dvostrukih kombinacija virusnih infekcija (GLRaV-1⇔GLRaV-3 i GLRaV-3⇔GFkV) u slijedu učestalosti nalaženja testovima sljedeća je trostruka virusna infekcija GFLV⇔GLRaV-1⇔GLRaV-3 nađena u ukupno 49 trsova. Od ukupno 28 trsova na kojima je utvrđeno 6 kombinacija s četiri virusa, dominiraju dvije kombinacije: GFLV⇔GLRaV-1⇔GLRaV-3⇔GFkV i kombinacija GFLV⇔GLRaV-1⇔GLRaV-3⇔GLRaV-4-9. Najveći broj virusa u kombinaciji utvrđen ovim istraživanjem je pet. Od tri trsa u kojima je detektirano istodobno pet virusa u kombinaciji, kombinacija GFLV⇔GLRaV-1⇔GLRaV-3⇔GLRaV-4-9⇔GFkV zabilježena je u dva trsa.

**Tablica 8.** Pregled rezultata seroloških analiza (ELISA metode) kojima je utvrđena zaraza 6 autohtonih hercegovačkih kultivara vinove loze prikupljenih u 20 vinograda dvaju hercegovačkih vinogorja. Za svaki kultivar naveden je broj trsova kod kojih je utvrđena zaraza s nekim od 9 istraživanih virusa (zaraženi trsovi), kao i broj trsova slobodan od istraživanih virusa (zdravi trsovi/*virus-tested*), a prikazan je i broj trsova u kojima je detektiran neki od virusa obuhvaćenih ovim istraživanjem (ArMV, GFkV, GFLV, GLRaV4-9, GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3). Dva istraživana virusa (GVA, GVB) nisu detektirani niti u jednom od 1332 testirana trsa te se oni ne navode u ovoj tablici.

Count – Uzorak			Virus									
Sorta	Oznaka vinograda	Broj testiranih uzoraka	Zdravi uzorci	Zaraženi uzorci	ArMV	GFkV	GFLV	GLRaV-4-9	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	<i>virus-tested</i>
<b>Bena</b>	<b>6.</b>	37	0	37	0	5	3	3	9	0	37	0
			0,00%	100,00%	0,00%	13,51%	8,11%	8,11%	24,32%	0,00%	100,00%	0,00%
	<b>20.</b>	18	1	17	4	6	7	4	7	0	17	1
			5,56%	94,44%	22,22%	33,33%	38,89%	22,22%	38,89%	0,00%	94,44%	5,56%
<b>Bena</b>	<b>16.</b>	82	7	75	0	12	2	17	20	0	71	7
			8,54%	91,46%	0,00%	14,63%	2,44%	20,73%	24,39%	0,00%	86,59%	8,54%
	<b>7.</b>	29	3	26	0	8	20	2	6	0	20	3
			10,34%	89,66%	0,00%	27,59%	68,97%	6,90%	20,69%	0,00%	68,97%	10,34%
<b>Blatina</b>	<b>19.</b>	50	0	50	0	14	43			0	29	0
			0,00%	100,00%	0,00%	28,00%	86,00%	0,00%	0,00%	0,00%	58,00%	0,00%
	<b>20.</b>	18	0	18	2	1	10	1	4	0	18	0
			0,00%	100,00%	11,11%	5,56%	55,56%	5,56%	22,22%	0,00%	100,00%	0,00%
	<b>5.</b>	52	1	51	0	12	50	2	6	0	26	1
			1,92%	98,08%	0,00%	23,08%	96,15%	3,85%	11,54%	0,00%	50,00%	1,92%
	<b>13.</b>	50	1	49	0	19	25	2	2	0	48	1
		2,00%	98,00%	0,00%	38,00%	50,00%	4,00%	4,00%	0,00%	96,00%	2,00%	
<b>Blatina</b>	<b>9.</b>	19	4	15	0	2	7	0	2	0	9	4
			21,05%	78,95%	0,00%	10,53%	36,84%	0,00%	10,53%	0,00%	47,37%	21,05%
	<b>14.</b>	163	39	124	0	24	56	4	19	0	96	39
		23,93%	76,07%	0,00%	14,72%	34,36%	2,45%	11,66%	0,00%	58,90%	23,93%	

nastavak Tablice 8.

Sorta	Oznaka vinograda	Broj testiranih uzoraka	Zdravi uzorci	Zaraženi uzorci	ArMV	GFkV	GFLV	GLRaV-4-9	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	virus-tested
<b>Dobrogostina</b>	<b>2.</b>	33	0	33	0	0	30	0	7	0	33	0
			0,00%	100,00%	0,00%	0,00%	90,91%	0,00%	21,21%	0,00%	100,00%	0,00%
	<b>20.</b>	18	0	18	1	4	6	3	5	1	18	0
			0,00%	100,00%	5,56%	22,22%	33,33%	16,67%	27,78%	5,56%	100,00%	0,00%
	<b>3.</b>	17	0	17	0	3	15	1	9	0	17	0
		0,00%	100,00%	0,00%	17,65%	88,24%	5,88%	52,94%	0,00%	100,00%	0,00%	
<b>18.</b>	7	0	7	0	2	7	1	1	1	7	0	
		0,00%	100,00%	0,00%	28,57%	100,00%	14,29%	14,29%	14,29%	100,00%	0,00%	
<b>4.</b>	42	7	35	0	0	11	0	3	0	34	7	
		16,67%	83,33%	0,00%	0,00%	26,19%	0,00%	7,14%	0,00%	80,95%	16,67%	
<b>Krkošija</b>	<b>8.</b>	43	0	43	0	3	20	7	28	0	36	0
			0,00%	100,00%	0,00%	6,98%	46,51%	16,28%	65,12%	0,00%	83,72%	0,00%
	<b>1.</b>	25	0	25	0	9		2	23	1		0
			0,00%	100,00%	0,00%	36,00%	0,00%	8,00%	92,00%	4,00%	0,00%	0,00%
	<b>20.</b>	19	0	19	3	3	9	5	8	0	19	0
		0,00%	100,00%	15,79%	15,79%	47,37%	26,32%	42,11%	0,00%	100,00%	0,00%	
<b>4.</b>	13	0	13	0	0	11	0	7	0	13	0	
		0,00%	100,00%	0,00%	0,00%	84,62%	0,00%	53,85%	0,00%	100,00%	0,00%	
<b>17.</b>	10	0	10	1	1	5	4	5	0	10	0	
		0,00%	100,00%	10,00%	10,00%	50,00%	40,00%	50,00%	0,00%	100,00%	0,00%	

nastavak Tablice 8.

Sorta	Oznaka vinograda	Broj testiranih uzoraka	Zdravi uzorci	Zaraženi uzorci	ArMV	GFkV	GFLV	GLRaV 4-9	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	<i>virus-tested</i>
Trnjak	10.	53	5	48	0	0	44	0	19	0	15	5
			9,43%	90,57%	0,00%	0,00%	83,02%	0,00%	35,85%	0,00%	28,30%	9,43%
	20.	16	2	14	1	5	2	0	6	0	8	2
			12,50%	87,50%	6,25%	31,25%	12,50%	0,00%	37,50%	0,00%	50,00%	12,50%
	15.	94	14	80	0	17	31	20	28	0	51	14
			14,89%	85,11%	0,00%	18,09%	32,98%	21,28%	29,79%	0,00%	54,26%	14,89%
	13.	50	9	41	0	15	19	4	15	0	15	9
			18,00%	82,00%	0,00%	30,00%	38,00%	8,00%	30,00%	0,00%	30,00%	18,00%
	5.	8	3	5	0	0	3	0	3	0	0	3
		37,50%	62,50%	0,00%	0,00%	37,50%	0,00%	37,50%	0,00%	0,00%	37,50%	
11.	15	6	9	0	1	5	0	4	0	1	6	
		40,00%	60,00%	0,00%	6,67%	33,33%	0,00%	26,67%	0,00%	6,67%	40,00%	
6.	23	11	12	0	1	1	0	6	0	6	11	
		47,83%	52,17%	0,00%	4,35%	4,35%	0,00%	26,09%	0,00%	26,09%	47,83%	
19.	50	32	18	0	0	7	0	10	0	4	32	
		64,00%	36,00%	0,00%	0,00%	14,00%	0,00%	20,00%	0,00%	8,00%	64,00%	

nastavak Tablice 8.

Sorta	Oznaka vinograda	Broj testiranih uzoraka	Zdravi uzorci	Zaraženi uzorci	ArMV	GFkV	GFLV	GLRaV 4-9	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	<i>virus-tested</i>
Žilavka	12.	29	0	29	0	8	3	0	7	0	29	0
			0,00%	100,00%	0,00%	27,59%	10,34%	0,00%	24,14%	0,00%	100,00%	0,00%
	20.	17	0	17	5	3	3	0	1	0	17	0
			0,00%	100,00%	29,41%	17,65%	17,65%	0,00%	5,88%	0,00%	100,00%	0,00%
	14.	150	15	135	0	15	39	5	19	0	122	15
			10,00%	90,00%	0,00%	10,00%	26,00%	3,33%	12,67%	0,00%	81,33%	10,00%
	13.	44	4	40	0	2	1	3	1	0	38	4
		9,09%	90,91%	0,00%	4,55%	2,27%	6,82%	2,27%	0,00%	86,36%	9,09%	
9.	17	4	13	0		4	0	2	0	11	4	
		23,53%	76,47%	0,00%	0,00%	23,53%	0,00%	11,76%	0,00%	64,71%	23,53%	
16.	21	9	12	0	2	1	0	1	0	11	9	
		42,86%	57,14%	0,00%	9,52%	4,76%	0,00%	4,76%	0,00%	52,38%	42,86%	
<b>Total Result</b>	<b>20</b>	<b>1332</b>	<b>179</b>	<b>1153</b>	<b>17</b>	<b>197</b>	<b>500</b>	<b>90</b>	<b>293</b>	<b>3</b>	<b>886</b>	<b>179</b>
			<b>13,44%</b>	<b>86,56%</b>	<b>1,28%</b>	<b>14,79%</b>	<b>37,54%</b>	<b>6,76%</b>	<b>22,00%</b>	<b>0,23%</b>	<b>66,52%</b>	<b>13,44%</b>



**Tablica 9.** Rezultati seroloških analiza (ELISA metode); broj trsova/uzoraka prikupljenih iz 20 vinograda hercegovačkog vinogorja kod kojih je utvrđena zaraza s nekim od 9 istraživanih virusa, te o detektiranim višestrukim zarazama, bilo da se radi o kombinaciji s dva, tri, četiri ili pet virusa, kao i onih u kojima nije utvrđena prisutnost ni jednoga od 9 istraživanih virusa.

Kultivar/sorta	Oznaka vinograda	Broj testiranih uzoraka	Zdravi uzorci	Zaraženi uzorci	broj virusa					
					1	2	3	4	5	0
BENA	6.	37	0	37	22	10	5	0	0	0
			0,00%	100,00%	59,46%	27,03%	13,51%	0,00%	0,00%	0,00%
	20.	18	1	17	1	9	3	3	1	1
			5,56%	94,44%	5,56%	50,00%	16,67%	16,67%	5,56%	5,56%
	18.	82	7	75	37	30	7	1	0	7
		8,54%	91,46%	45,12%	36,59%	8,54%	1,22%	0,00%	8,54%	
	7.	29	3	26	5	15	3	3	0	3
			10,34%	89,66%	17,24%	51,72%	10,34%	10,34%	0,00%	10,34%
BLATINA	19.	50	0	50	23	18	9	0	0	0
			0,00%	100,00%	46,00%	36,00%	18,00%	0,00%	0,00%	0,00%
	20.	18	0	18	7	6	4	1	0	0
			0,00%	100,00%	38,89%	33,33%	22,22%	5,56%	0,00%	0,00%
	5.	52	1	51	17	25	7	2	0	1
			1,92%	98,08%	32,69%	48,08%	13,46%	3,85%	0,00%	1,92%
	13.	50	1	49	19	15	13	2	0	1
		2,00%	98,00%	38,00%	30,00%	26,00%	4,00%	0,00%	2,00%	
	9.	19	4	15	10	5	0	0	4	
			21,05%	78,95%	52,63%	26,32%	0,00%	0,00%	0,00%	21,05%
	14.	163	39	124	62	49	13	0	0	39
			23,93%	76,07%	38,04%	30,06%	7,98%	0,00%	0,00%	23,93%

nastavak Tablice 9.

Kultivar/sorta	Oznaka vinograda	Broj testiranih uzoraka	Zdravi uzorci	Zaraženi uzorci	1	2	3	4	5	0
<b>DOBROGOSTINA</b>	<b>2.</b>	33	0	33	3	23	7	0	0	0
			0,00%	100,00%	9,09%	69,70%	21,21%	0,00%	0,00%	0,00%
	<b>20.</b>	18	0	18	5	7	5	1	0	0
			0,00%	100,00%	27,78%	38,89%	27,78%	5,56%	0,00%	0,00%
	<b>3.</b>	17	0	17		9	5	3	0	0
		0,00%	100,00%	0,00%	52,94%	29,41%	17,65%	0,00%	0,00%	
	<b>18.</b>	7	0	7		4	2	0	1	0
		0,00%	100,00%	0,00%	57,14%	28,57%	0,00%	14,29%	0,00%	
	<b>4.</b>	42	7	35	22	13		0	0	7
			16,67%	83,33%	52,38%	30,95%	0,00%	0,00%	0,00%	16,67%
<b>KRKOŠIJA</b>	<b>8.</b>	43	0	43	12	17	8	6	0	0
			0,00%	100,00%	27,91%	39,53%	18,60%	13,95%	0,00%	0,00%
	<b>1.</b>	25	0	25	16	8	1	0	0	0
			0,00%	100,00%	64,00%	32,00%	4,00%	0,00%	0,00%	0,00%
	<b>20.</b>	19	0	19	3	6	8	2	0	0
		0,00%	100,00%	15,79%	31,58%	42,11%	10,53%	0,00%	0,00%	
	<b>4.</b>	13	0	13		8	5	0	0	0
		0,00%	100,00%	0,00%	61,54%	38,46%	0,00%	0,00%	0,00%	
	<b>17.</b>	10	0	10	1	4	4	0	1	0
			0,00%	100,00%	10,00%	40,00%	40,00%	0,00%	10,00%	0,00%

nastavak Tablice 9.

Kultivar/sorta	Oznaka vinograda	Broj testiranih uzoraka	Zdravi uzorci	Zaraženi uzorci	1	2	3	4	5	0
TRNJAK	10.	53	5	48	28	10	10	0	0	5
			9,43%	90,57%	52,83%	18,87%	18,87%	0,00%	0,00%	9,43%
	20.	16	4	14	4	8	0	0	0	4
			25,00%	87,50%	25,00%	50,00%	0,00%	0,00%	0,00%	25,00%
	15.	94	14	80	31	33	14	2	0	14
			14,89%	85,11%	32,98%	35,11%	14,89%	2,13%	0,00%	14,89%
	13.	50	9	41	18	19	4	0	0	9
			18,00%	82,00%	36,00%	38,00%	8,00%	0,00%	0,00%	18,00%
	5.	8	3	5	4	1	0	0	0	3
			37,50%	62,50%	50,00%	12,50%	0,00%	0,00%	0,00%	37,50%
11.	15	6	9	7	2	0	0	0	6	
		40,00%	60,00%	46,67%	13,33%	0,00%	0,00%	0,00%	40,00%	
19	50	32	18	15	3	0	0	0	32	
		64,00%	36,00%	30,00%	6,00%	0,00%	0,00%	0,00%	64,00%	
6.	23	11	12	10	2	0	0	0	11	
		47,83%	52,17%	43,48%	8,70%	0,00%	0,00%	0,00%	47,83%	
12.	29	0	29	16	8	5	0	0	0	
		0,00%	100,00%	55,17%	27,59%	17,24%	0,00%	0,00%	0,00%	
ŽILAVKA	20.	17	0	17	8	7	2	0	0	0,00%
		0,00%	100,00%	47,06%	41,18%	11,76%	0,00%	0,00%	0,00%	
14.	150	15	135	85	37	11	2	0	15	
		10,00%	90,00%	56,67%	24,67%	7,33%	1,33%	0,00%	10,00%	
13.	44	4	40	35	5	0	0	0	4	
		9,09%	90,91%	79,55%	11,36%	0,00%	0,00%	0,00%	9,09%	
9.	17	4	13	9	4	0	0	0	4	
		23,53%	76,47%	52,94%	23,53%	0,00%	0,00%	0,00%	23,53%	
16.	21	9	12	9	3	0	0	0	9	
		42,86%	57,14%	42,86%	14,29%	0,00%	0,00%	0,00%	42,86%	
<b>Total Result</b>		<b>1332</b>	<b>179</b>	<b>1155</b>	<b>546</b>	<b>423</b>	<b>155</b>	<b>28</b>	<b>3</b>	<b>179</b>
			<b>13,44%</b>	<b>86,56%</b>	<b>40,99%</b>	<b>31,76%</b>	<b>11,64%</b>	<b>2,10%</b>	<b>0,23%</b>	<b>13,44%</b>

**Tablica 10.** Učestalost pojave najčešćih virusa ili njihovih kombinacija detektiranih metodom ELISA kod trsova testiranih u ovom istraživanju, kao i ukupan broj uzoraka skupine (virus/kombinacija) te njihov postotni udio u svakoj skupini i njihov postotni udio u ukupnom broju uzoraka.

Moguće kombinacije prisutnosti virusa	Ukupan broj uzoraka s mogućom kombinacijom	Broj virusnih kombinacija	% s obzirom na moguću kombinaciju	Pojedinačan broj uzoraka kombinacije	% od ukupnog broja uzoraka
<i>virus-tested</i>		0		179	13,44%
GLRaV-3			63,92%	349	26,20%
GFLV			21,25%	116	8,71%
GLRaV-1	546	1	10,62%	58	4,35%
GFkV			2,75%	15	1,13%
GLRaV-4-9			1,10%	6	0,45%
ArMV			0,37%	2	0,15%
GFLV↔GLRaV-3			47,28%	200	15,02%
GLRaV-1↔GLRaV-3			18,20%	77	5,78%
GLRaV-3↔GFkV			11,82%	50	3,75%
GLRaV-3↔GLRaV-4-9			6,38%	27	2,03%
GFLV↔GLRaV-1			6,15%	26	1,95%
GLRaV-1↔GFkV	423	2	3,55%	15	1,13%
GFLV↔GFkV			3,55%	15	1,13%
GLRaV-1↔GLRaV-4-9			1,42%	6	0,45%
ArMV↔GLRaV-3			0,95%	4	0,30%
GLRaV-4-9↔GFkV			0,47%	2	0,15%
GFLV↔GLRaV-4-9			0,24%	1	0,08%

nastavak Tablice 10.

Moguće kombinacije prisutnosti virusa	Ukupan broj uzoraka s mogućom kombinacijom	Broj virusnih kombinacija	% s obzirom na moguću kombinaciju	Pojedinačan broj uzoraka kombinacije	% od ukupnog broja uzoraka
GFLV⇔GLRaV-1⇔GLRaV-3	155	3	31,61%	49	3,68%
GFLV⇔GLRaV-3⇔GFkV			30,32%	47	3,53%
GLRaV-1⇔GLRaV-3⇔GFkV			13,55%	21	1,58%
GLRaV-1⇔GLRaV-3⇔GLRaV-4-9			7,10%	11	0,83%
GFLV⇔GLRaV-3⇔GLRaV-4-9			4,52%	7	0,53%
GFLV⇔ArMV⇔GLRaV-3			3,23%	5	0,38%
GLRaV-3⇔GLRaV-4-9⇔GFkV			1,94%	3	0,23%
GLRaV-1⇔GLRaV-4-9⇔GFkV			1,94%	3	0,23%
ArMV⇔GLRaV-1⇔GLRaV-3			1,94%	3	0,23%
GFLV⇔GLRaV-4-9⇔GFkV			1,94%	3	0,23%
GLRaV-2⇔GLRaV-4-9⇔GFkV			0,65%	1	0,08%
GLRaV-2⇔GLRaV-3⇔GFkV			0,65%	1	0,08%
GFLV⇔GLRaV-1⇔GFkV			0,65%	1	0,08%
GFLV⇔GLRaV-1⇔GLRaV-3⇔GFkV	28	4	28,57%	8	0,60%
GFLV⇔GLRaV-1⇔GLRaV-3⇔GLRaV-4-9			28,57%	8	0,60%
GFLV⇔GLRaV-3⇔GLRaV-4-9⇔GFkV			25,00%	7	0,53%
GFLV⇔ArMV⇔GLRaV-1⇔GLRaV-3			10,71%	3	0,23%
GLRaV-1⇔GLRaV-3⇔GLRaV-4-9⇔GFkV			3,57%	1	0,08%
GFLV⇔GLRaV-1⇔GLRaV-4-9⇔GFkV			3,57%	1	0,08%
GFLV⇔GLRaV-1⇔GLRaV-3⇔GLRaV-4-9⇔GFkV	3	5	66,67%	2	0,15%
GFLV⇔GLRaV-2⇔GLRaV-3⇔GLRaV-4-9⇔GFkV			33,33%	1	0,08%

Tablica 11. Sanitarni status šest autohtonih kultivara u hercegovačkom vinogorju.

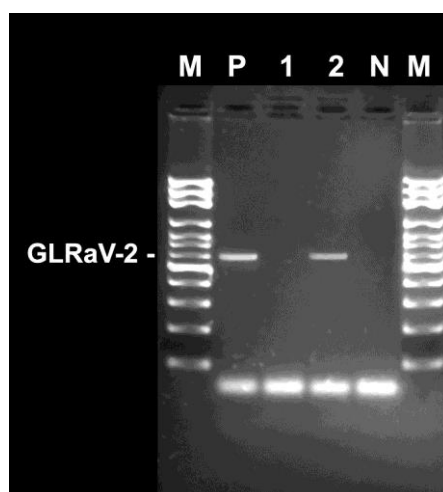
Kultivar	<i>Virus- tested</i>	Broj vinograda	Broj testiranih trsova	GLRaV-3 %	GFLV %	GLRaV-1 %	GFkV %	GLRaV-4-9 %	ArMV %	GLRaV-2 %	Zaražen i trsovi
<b>Bena</b>	11 6,62%	4	166 12,46%	87,35	19,27	25,30	18,67	15,66	2,40	0	155 93,37%
<b>Blatina</b>	45 12,8%	6	352 26,42%	64,20	54,26	9,37	20,45	2,55	0,56	0	307 87,21%
<b>Dobrogostina</b>	7 6,4%	5	117 8,78%	93,16	58,97	21,36	7,69	4,27	0,85	1,70	110 94,01%
<b>Krkošija</b>	0	5	110 8,25%	70,90	40,90	64,54	14,54	16,36	3,63	0,90	110 100%
<b>Trnjak</b>	84 28%	8	309 23,19%	31,71	36,24	29,44	12,62	7,76	0,32	0	225 72,81%
<b>Žilavka</b>	32 11,5%	6	278 20,87%	82,01	18,34	11,15	10,79	2,87	1,79	0	246 88,48%
<b>UKUPNO</b>	<b>179</b> 13,44%	<b>20</b>	<b>1.332</b>	<b>66,37</b>	<b>37,54</b>	<b>22,00</b>	<b>14,79</b>	<b>6,76</b>	<b>1,28</b>	<b>0,23</b>	<b>1.153</b> 86,56%

## 4.2. Rezultati detekcije virusa metodom RT-PCR

Dijagnostičkom metodom baziranoj na istraživanju genoma analizirano je šest virusa LR skupine, testirano je ukupno 27 trsova. Kroz šest RT-PCR testova analizirano je svih šest autohtonih kultivara. Rezultati testiranja prikazani su u Tablici 20. Priloga 4.

### 4.2.1. Rezultati PCR amplifikacije u detekciji GLRaV-2

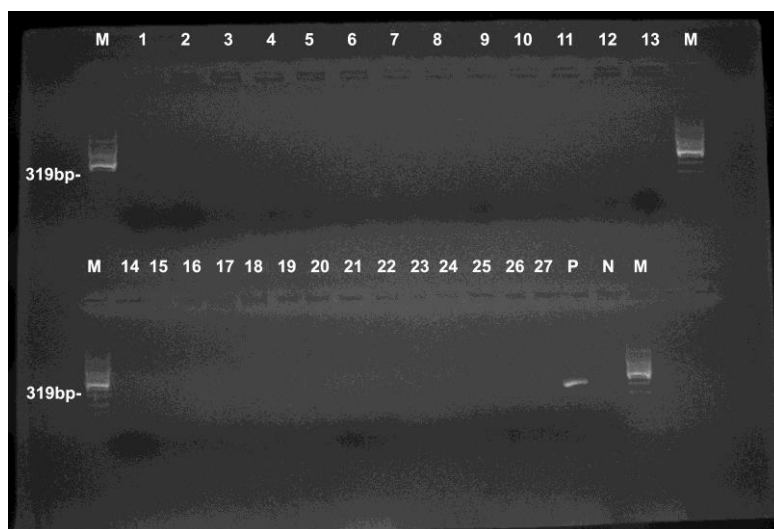
Prisutnost GLRaV-2 potvrđena je vizualizacijom amplikona iz reakcije PCR kod pozitivnoga uzorka uključena u ovo istraživanje, ali u dva različita razrjeđenja (opisano u poglavlju 4.2.3.). Kod navedena uzorka nakon elektroforeze u 1,5 % agaroznom gelu i nakon bojenja gela etidijevim bromidom uočeni su fragmenti očekivane duljine od 600 parova baza (Slika 6.). Bio je to uzorak kultivara Dobrogostina iz kolekcijskoga nasada Višići (oznake: Višići red 2 Dobrogostina 3). GLRaV-2 je u njemu bio detektiran i u serološkoj metodi ELISA istodobno s još nekoliko virusa (miješana zaraza).



**Slika 6.** Agarozni gel nakon provedene horizontalne gel-elektroforeze pri testiranju na virus GLRaV-2 metodom RT-PCR (1,5 % agarozni gel; produkti su obojeni etidijevim bromidom). Jažice 1 i 2 predstavljaju isti uzorak (različita razrjeđenja). Radi se o uzorku Dobrogostine iz Višića koji je i u ELISA metodi bio pozitivan na GLRaV-2. **P** – pozitivna kontrola (GLRaV-2; amplikon je veličine 600 pb); **N** – negativna kontrola; **M** – marker DNA.

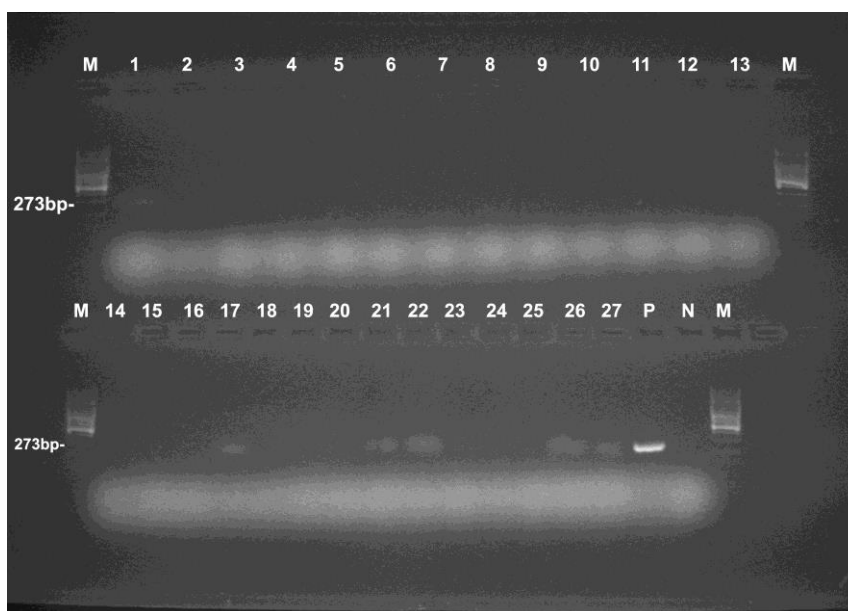
#### 4.2.2. Rezultati RT-PCR metode

Od ukupno 90 uzoraka koji su bili ELISA-pozitivni na neki od virusa iz skupine GLRaV-4-9 (Tablica 8.), njih dvadeset sedam (Tablica 20.) dodatno je testirano na navedene viruse metodom RT-PCR uz primjenu specifičnoga para početnica za svaki istraživani virus iz skupine GLRaV-4-9 (Tablica 4.). Nakon elektroforeze u 1,5 % agaroznom gelu i bojenja s *GelRed Nucleic Acid* bojilom, kod 6 uzoraka bili su dobiveni produkti duljine od 273 parova baza uz korištenje para početnica za GLRaV-5 (Slika 8.), a kod 7 uzoraka bili su dobiveni produkti duljine 393 bp uz korištenje para početnica za GLRaV-9 (slika 11.). U RT-PCR analizi ni u jednom testiranom uzorku nisu detektirani virusi GLRaV-4, GLRaV-6, ni GLRaV-7 (Slike 7., 9. I 10.).

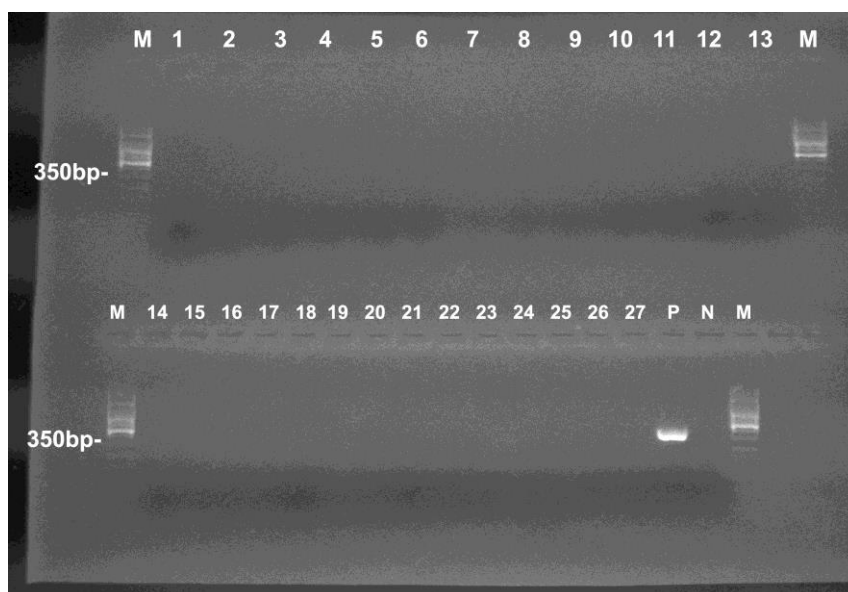


**Slika 7.** Agarozni gel nakon provedene horizontalne gel-elektroforeze pri testiranju na GLRaV-4 metodom RT-PCR (1,5 % agarozni gel; produkti su obojeni *GelRed Nucleic Acid* bojilom). Jažice: **M** – marker DNA; **1-27** – negativni uzorci; **P** – pozitivna kontrola (GLRaV-4; amplicon veličine 319 bp); **N** – negativna kontrola.

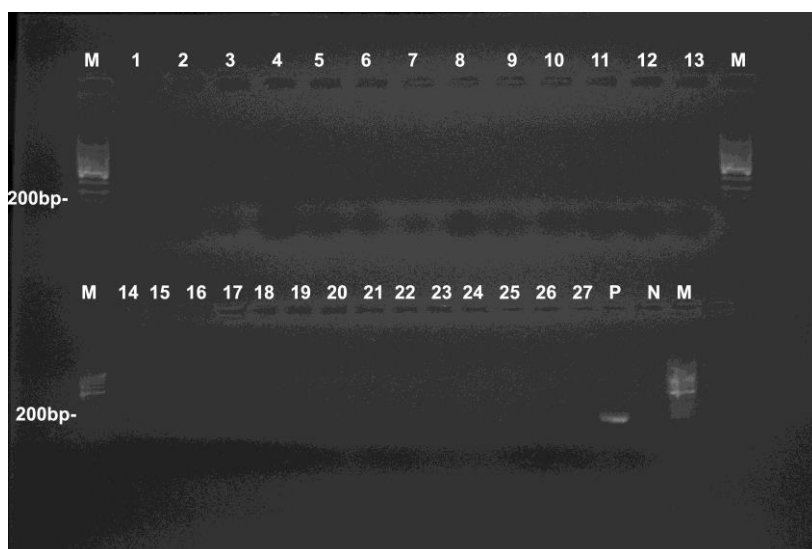




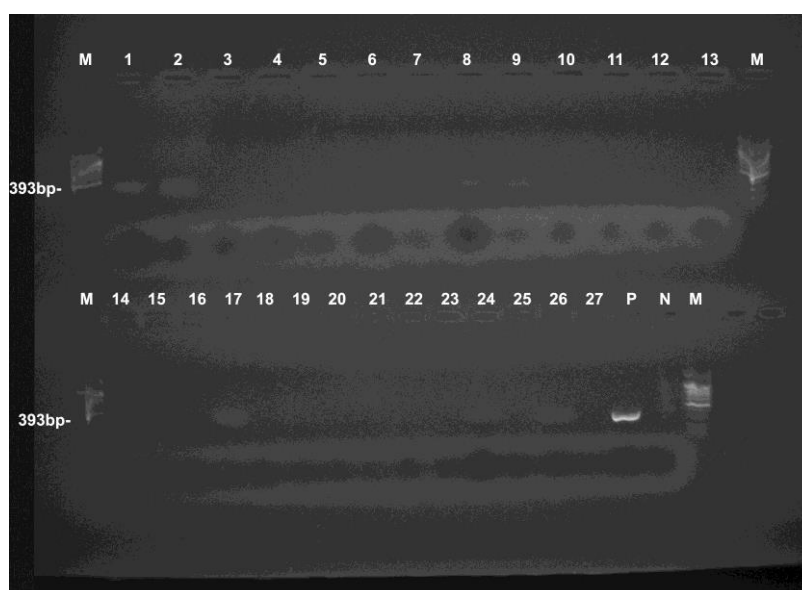
**Slika 8.** Agarozni gel nakon provedene horizontalne gel-elektroforeze pri testiranju na GLRaV-5 metodom RT-PCR (1,5 % agarozni gel; produkti su obojeni *GelRed Nucleic Acid* bojilom). Jažice: **M** – marker DNA; **1, 17, 21, 22, 26, 27** – pozitivni uzorci; **2 do 16, 18 do 20, 23 do 25** – negativni uzorci; **P** – pozitivna kontrola (GLRaV-9; ampikon veličine 273 bp); **N** – negativna kontrola.



**Slika 9.** Agarozni gel nakon provedene horizontalne gel-elektroforeze pri testiranju na GLRaV-6 metodom RT-PCR (1,5 % agarozni gel; produkti su obojeni *GelRed Nucleic Acid* bojilom). Jažice: **M** – marker DNA; **1-27** – negativni uzorci; **P** – pozitivna kontrola (GLRaV-6; ampikon veličine 350 bp); **N** – negativna kontrola.



**Slika 10.** Agarozni gel nakon provedene horizontalne gel-elektroforeze pri testiranju na GLRaV-7 metodom RT-PCR (1,5 % agarozni gel; produkti su obojeni *GelRed Nucleic Acid* bojilom). Jažice: **M** – marker DNA; **1-27** – negativni uzorci; **P** – pozitivna kontrola (GLRaV-7; amplicon veličine 200 bp); **N** – negativna kontrola.



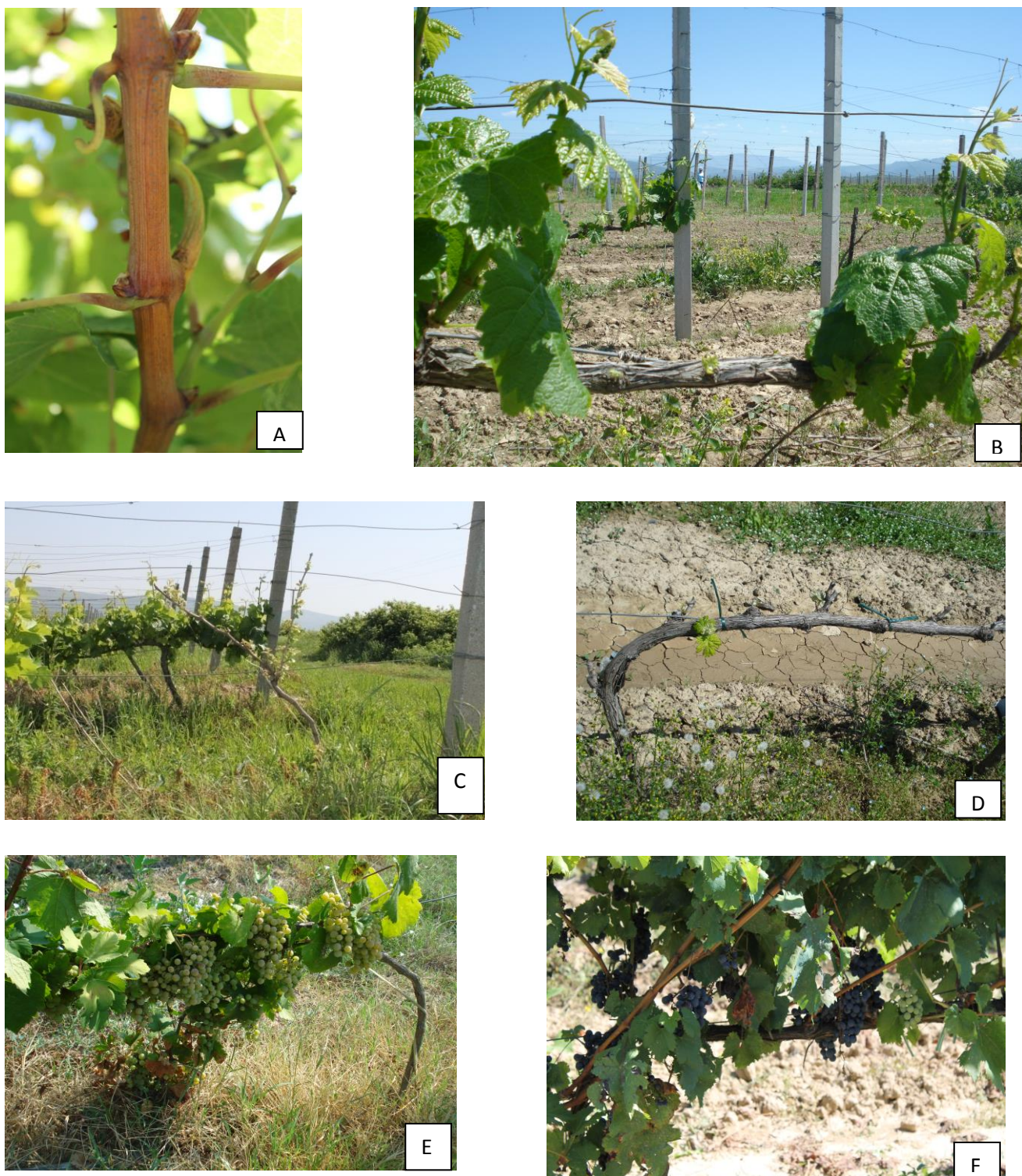
**Slika 11.** Agarozni gel nakon provedene horizontalne gel-elektroforeze pri testiranju na GLRaV-9 metodom RT-PCR (1,5 % agarozni gel; produkti su obojeni *GelRed Nucleic Acid* bojilom). Jažice: **M** – marker DNA; **1, 2, 8, 9, 17, 24, 26** – pozitivni uzorci; **3 do 7, 10 do 16, 18 do 23, 25 i 27**-negativni uzorci; **P** – pozitivna kontrola (GLRaV-9; amplicon veličine 393 bp); **N** – negativna kontrola.

Jedan od ciljeva ove doktorske disertacije bio je provođenje molekularne karakterizacije i filogenetske usporedbe s izolatima iz susjednih zemalja (Hrvatska i Italija) od virusa koji su prvi put detektirani u istraživanoj regiji. Ključni problemi u realizaciji toga cilja bili su ograničeni proračuni i vremenski okviri javnih nabava za kupnju reagensa. Od prijave teme 2011. godine do pisanja disertacije u skupini GLRaV-4-9 došlo je do značajnoga smanjenja broja virusnih vrsta, što je uzrokovalo izmjene u daljem istraživanju. Virus iz skupine GLRaV-4-9 detektirani RT-PCR-om više nisu zasebne vrste, nego je riječ o GLRaV-4. Planirano je nastaviti istraživanje, a sljedeći je korak sekvenciranje onih virusa nepotvrđenih RT-PCR metodom, njihova molekularna karakterizacija i filogenetska usporedba s virusnim izolatima susjednih zemalja (Hrvatska i Italija). Rezultati će se potom objaviti u relevantnim znanstvenim časopisima.

### **4.3. Simptomatologija prirodnih virusnih zaraza autohtonih kultivara**

Tijekom vizualnih pregleda trsova vinove loze kroz ukupno osam obilazaka kolekcijuskoga nasada *Višići*, u kojem se nalazilo svih šest istraživanih autohtonih kultivara, zabilježeno je ukupno 22 različita simptoma (Prilog 3.), od kojih su pojedini bili češće uočeni (Slika 12.). Trsovi iz toga kolekcijuskog nasada uzorkovani su i serloški testirani (ELISA metode; Prilog 4.). Budući da je iz literature poznato da simptomi variraju tijekom vegetacije, odnosno da su manjega intenziteta ljeti, te da ih većina nestaje zimi, a da se najbolje uočavaju u proljeće i jesen, vizualni pregledi obavljeni su od 2011. do 2013. g. (proljeće, kraj ljeta i na jesen; poglavlje 3.2.1.; Tablica 5.).

Rezultati vizualnih pregleda trsova u kontekstu rezultata serološke detekcije virusa (Tablica 20. Priloga 4.) u vinogradu *Višići* za sve istraživane kultivare (Bena, Baltina, Krkošija, Dobrogostina, Trnjak, Žilavka) prikazani su tablično (Tablice 12. Do 17.) kako bi se simptomi doveli u direktnu vezu s virusima. U Tablici 19. Priloga 3. nalaze se fotografije svih simptoma uočenih na virotičnim trsovima autohtonih hercegovačkih kultivara u kolekcijuskom nasadu *Višići*.



**Slika 12.** Najčešći simptomi viroza na trsovima autohtonih kultivara u kolekcijskom nasadu *Višići*: skraćeni internodiji (A), neujednačenost trsa u porastu (B), zastoj u rastu (C), zastoj u kretanju vegetacije (D), povećan broj grozdova smanjene veličine (F i E).



**Tablica 12.** Raznolikost simptoma uslijed zaraza različitim virusima kultivara **Bena** u kolekcijskom nasadu *Višići*.

KULTIVAR: BENA														
virus	simptom	GLRaV -3, GFLV	GLRaV -3, GFkV, GLRaV -1, GLRaV - 4-9	GLRaV -3, GFkV	GLRaV -3, GLRaV -1	GLRaV -3, ArMV	GLRaV -3, ArMV, GFLV, GLRaV -1	GLRaV -3	GLRaV -3, GLRaV -1, GLRaV 4-9	GLRaV -3, ArMV, GFLV, GLRaV -1, GLRaV -4-9	GLRaV -3, GFkV, GFLV, GLRaV -1	GLRaV -3, ArMV, GFLV	0 (virus-tested)	UKUPNO
		GFLV	deformiranost lista											
asimetričnost, naboranost, pojačana nazubljenost lista														
klorotična išaranost														
nenormalno grananje rozgve/mladice (rašljanje, bifurkacije)														
skraćenje internodija (nepravilan razvoj internodija, dvostruki nodiji)	+			(+)*	(+)	+	+	(+)	(+)	+	+	+	+	7 (4)
fascijacije (sraslice, izgledom podsjeća na dvije slijepljene mladice)														
rast cik-cak				(+)			+					+		2 (1)
manji broj grozdova koji su smanjeni veličinom, pucanje bobica	+		(+)				+		+	+	+			5 (1)
grozdovi rehljaviti								(+)				+		1 (1)
neujednačeno dozrijevanje bobica	+		(+)			+			(+)		+			3 (2)
formiranje manjeg broja bobica smanjene veličine									(+)					(1)
žuti mozaik, tj. žućenje koje može zahvatiti sve zelene dijelove (djelomičan ili kompletan)				(+)				(+)	(+)			+		1 (3)
nejednolično odrvnjavanje rozgve			(+)							+				1 (1)
smanjenje veličine listova				(+)										(1)
klorotična diskoloracija			(+)								+			1 (1)
listovi mogu imati krom žute mrlje duž vena ( <i>chrome yellow flecking</i> ).														

Nastavak Tablice 12.

Virus	simptom	GLRaV -3, GFLV	GLRaV -3, GFkV, GLRaV -1, GLRaV -4-9	GLRaV -3, GFkV	GLRaV -3, GLRaV -1	GLRaV -3, ArMV	GLRaV -3, ArMV, GFLV, GLRaV -1	GLRaV -3	GLRaV -3, GLRaV -1, GLRaV 4-9	GLRaV -3, ArMV, GFLV, GLRaV -1, GLRaV -4-9	GLRaV -3, GFkV, GFLV, GLRaV -1	GLRaV -3, ArMV, GFLV	0 (virus-tested)	UKUPNO
GLRaV	kasnije otvaranje pupova	+	+	+	+			+	+				+	7
	slabiji razvoj mladica	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		11
	crvenilo među žilnog područja listova kod crnih kultivara													
	uvijanje listova prema naličju													
	žučenje među žilnog područja lista kod bijelih kultivara													
	smanjenje vigora	+												1
	dozrijevanje grozdova kasni							+						1
	zastoj rasta u vegetaciji	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		10
GLRaV -2	pojava guka, tj. zadebljanje na mjestu srastanja plemka/podloga													
Rugosa wood complex	pojava brazdi i udubina na centralnom cilindru (plemka/podloga)													
	pojava guka, tj. zadebljanje na mjestu srastanja plemka/podloga													
	uvijenost, žučenje i crvenilo listova													
	smanjen vigor													
	kasnije otvaranje pupova													
	iznenadno propadanje trsova													
GFkV	prosvjetljenje žila													
	nastajanje pjega													
	listovi naborani													
	deformirani													
	uvijanje listova													
	zastoj u rastu		+	+							+			3
UKUPNO:		14 (2)											54 (15)**	

\*(+) simptom nije svojstven za virus/e u kombinaciji \*\* (2) zbroj netipičnih simptoma za taj virus

**Tablica 13.** Raznolikost simptoma uslijed zaraza različitim virusima kultivara **Blatina** u kolekcijskom nasadu *Višiči*.

KULTIVAR: BLATINA										
virus	simptom	GLRaV-3	GLRaV-3, GFLV	GLRaV-3, GFLV, GLRaV-4-9	GFLV	GLRaV-3, GFLV, GFKV	GLRaV-3, AEMV, GLRaV-1	GLRaV-3, GLRaV-1	GLRaV-3, GLRaV-1, GFLV	UKUPNO
GFLV	deformiranost lista	(+)*								(1)
	asimetričnost, naboranost, pojačana nazubljenost lista	(+)	+		+		+	(+)		3 (2)
	klorotična išaranost									
	nenormalno grananje rozgve/mladice (rašljanje, bifurkacije)	(+)	+							1 (1)
	skraćenje internodija (nepravilan razvoj internodija, dvostruki nodiji)	(+)	+		+	+	+	(+)		4 (2)
	fascijacije (sraslice, izgledom podsjeća na dvije slijepljene mladice)									
	rast cik-cak	(+)	+	+	+	+				4 (1)
	manji broj grozdova koji su smanjeni veličinom, pucanje bobica	(+)	+		+	+				3 (1)
	grozdovi rehuljavi		+			+	+			3
	neujednačeno dozrijevanje bobica	(+)								(1)
	formiranje manjeg broja bobica smanjene veličine									
	žuti mozaik, tj. žućenje koje može zahvatiti sve zelene dijelove (djelomičan ili kompletan)	(+)						(+)		(2)
	nejednolično odrvenjavanje rozgve	(+)	+		+					2 (1)
	smanjenje veličine listova									
	klorotična diskoloracija	(+)	+			+				2 (1)
listovi mogu imati krom žute mrlje duž vena ( <i>chrome yellow flecking</i> ).										

Nastavak Tablice 13.

Virus	simptom	GLRaV-3	GLRaV-3, GFLV	GLRaV-3, GFLV, GLRaV-4-9	GFLV	GLRaV-3, GFLV, GFKV	GLRaV-3, ArMV, GLRaV-1	GLRaV-3, GLRaV-1	GLRaV-3, GLRaV-1, GFLV	UKUPNO
GLRaV	kasnije otvaranje pupova	+	+	+	(+)	+		+	+	6 (1)
	slabiji razvoj mladica	+		+						2
	crvenilo među žilnog područja listova kod crnih kultivara	+								1
	uvijanje listova prema naličju									
	žučenje među žilnog područja lista kod bijelih kultivara									
	smanjenje vigora									
	dozrijevanje grozdova kasni	+								1
	zastoj rasta u vegetaciji	+		+	(+)	+				3 (1)
GLRaV- 2	pojava guka, tj. zadebljanje na mjestu srastanja plemka/podloga			(+)				(+)		(2)
Rugosa wood complex	pojava brazdi i udubina na centralnom cilindru (plemka/podloga)									
	pojava guka, tj. zadebljanje na mjestu srastanja plemka/podloga									
	uvijenost, žučenje i crvenilo listova									
	smanjen vigor									
	kasnije otvaranje pupova									
	iznenadno propadanje trsova									
GFKV	prosvjetljenje žila									
	nastajanje pjega,									
	listovi naborani									
	deformirani									
	uvijanje listova									
	zastoj u rastu					+				1
UKUPNO	tipova simptoma: 15 (4)									38 (17)**

\*(+) simptom nije svojstven za virus/e u kombinaciji \*\*\*(2) zbroj netipičnih simptoma za taj virus



**Tablica 14.** Raznolikost simptoma uslijed zaraza različitim virusima kultivara **Dobrogostina** u kolekcijskom nasadu *Višići*.

KULTIVAR: DOBROGOSTINA													
virus	simptom	GLRaV-3	GLRaV-3, GLRaV-4-9	GLRaV-3, GFLV	GLRaV-3, GLRaV-1	GLRaV-3, GFLV, GLRaV-1	GLRaV-3, ArMV, GFLV	GLRaV-3, GFkV, GFLV, GLRaV-1	GLRaV-3, GFkV, GLRaV-2, GLRaV-4-9	GLRaV-3, GFkV, GLRaV-1	GLRaV-3, GFLV, GLRaV-4-9	GLRaV-3, GFkV	UKUPNO
GFLV	deformiranost lista												
	asimetričnost, naboranost, pojačana nazubljenost lista				(+)*		+						1 (1)
	klorotična išaranost												
	nenormalno grananje rozgve/mladice (rašljanje, bifurkacije)												
	skraćenje internodija (nepravilan razvoj internodija, dvostruki nodiji)	(+)	(+)	+	(+)	+			(+)			(+)	2 (5)
	fascijacije (sraslice, izgledom podsjeća na dvije slijepljene mladice)												
	rast cik-cak	(+)	(+)	+		+	+						3 (2)
	manji broj grozdova koji su smanjeni veličinom, pucanje bobica	(+)	(+)	+								(+)	1 (3)
	grozdovi rehljaviti	(+)	(+)	+		+							2 (2)
	neujednačeno dozrijevanje bobica	(+)	(+)			+		+	(+)	(+)			2 (4)
	formiranje manjeg broja bobica smanjene veličine								+				1
	žuti mozaik, tj. žućenje koje može zahvatiti sve zelene dijelove (djelomičan ili kompletan)	(+)	(+)	+			+			(+)			2 (3)
	nejednolično odrvenjavanje rozgve	(+)	(+)	+		+	+	+	(+)	(+)			4 (4)
	smanjenje veličine listova							+					1
	klorotična diskoloracija	(+)	(+)	+	(+)	+	+	+					4 (3)
	listovi mogu imati krom žute mrlje duž vena ( <i>chrome yellow flecking</i> ).												

Nastavak Tablice 14.

Virus	simptom	GLRaV-3	GLRaV-3, GLRaV-4-9	GLRaV-3, GFLV	GLRaV-3, GLRaV-1	GLRaV-3, GFLV, GLRaV-1	GLRaV-3, ArMV, GFLV	GLRaV-3, GFkV, GFLV, GLRaV-1	GLRaV-3, GFkV, GLRaV-2, GLRaV-4-9	GLRaV-3, GFkV, GLRaV-1	GLRaV-3, GFLV, GLRaV-4-9	GLRaV-3, GFkV	UKUPNO
GLRaV aV	kasnije otvaranje pupova	+	+	+			+	+	+	+	+		8
	slabiji razvoj mladica	+											1
	crvenilo među žilnog područja listova kod crnih kultivara												
	uvijanje listova prema naličju												
	žućenje među žilnog područja lista kod bijelih kultivara												
	smanjenje vigora												
	dozrijevanje grozdova kasni	+											1
	zastoj rasta u vegetaciji	+	+	+		+		+	+		+		7
GLRaV -2	pojava guka, tj. zadebljanje na mjestu srastanja plemka/podloga												
Rugosa wood complex	pojava brazdi i udubina na centralnom cilindru (plemka/podloga)												
	pojava guka, tj. zadebljanje na mjestu srastanja plemka/podloga												
	uvijenost, žućenje i crvenilo listova												
	smanjen vigor												
	kasnije otvaranje pupova												
	iznenadno propadanje trsova												
GFkV	prosvjetljenje žila												
	nastajanje pjega												
	listovi naborani												
	deformirani												
	uvijanje listova												
	zastoj u rastu							+					1
<b>UKUPNO:</b>		tipova simptoma: 16										41 (27)**	

\*(+) simptom nije svojstven za virus/e u kombinaciji \*\* (2) zbroj netipičnih simptoma za taj virus

**Tablica 15.** Raznolikost simptoma uslijed zaraza različitim virusima kultivara **Krkošija** u kolekcijskom nasadu *Višići*.

KULTIVAR: KRKOŠIJA															
virus	simptom	GLRaV-3	GLRaV-3, GFLV	GLRaV-3, GFLV, GLRaV-1	GLRaV-3, GLRaV-1, ArMV	GFLV	GLRaV-3, GLRaV-1	GLRaV-3, GLRaV-1, GLRaV-4-9	GLRaV-3, GFKV, GLRaV-1	GLRaV-3, ArMV, GFLV	GLRaV-3, GFKV, GLRaV-4-9	GLRaV-3, GFKV	GLRaV-3, GFLV, GLRaV-4-9	GLRaV-3, GLRaV-4-9	UKUPNO
GFLV	deformiranost lista	(+)*	+	+		+									3 (1)
	asimetričnost, naboranost, pojačana nazubljenost lista				+	+				+	(+)				3 (1)
	klorotična išaranost														
	nenormalno grananje rozgve/mladice (rašljanje, bifurkacije)														
	skraćenje internodija (nepravilan razvoj internodija, dvostruki nodiji)	(+)	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	+	(+)	5 (7)
	fascijacije (sraslice, izgledom podsjeća na dvije slijepljene mladice)														
	rast cik-cak		+				(+)								1 (1)
	manji broj grozdova koji su smanjeni veličinom, pucanje bobica	(+)	+				+	(+)							2 (2)
	grozdovi rehuljavi	(+)	+	+	+				(+)						3 (2)
	neujednačeno dozrijevanje bobica	(+)		+	+		(+)	(+)							2 (3)
	formiranje manjeg broja bobica smanjene veličine							(+)		+					1 (1)
	žuti mozaik, tj. žućenje koje može zahvatiti sve zelene dijelove (djelomičan ili kompletan)				+	+		(+)							2 (1)
	nejednolično odrvenjavanje rozgve	(+)			+	+		(+)		+	(+)				3 (3)
	smanjenje veličine listova				+		(+)								1 (1)
	klorotična diskoloracija	(+)		+										(+)	1 (2)
listovi mogu imati krom žute mrlje duž vena ( <i>chrome yellow flecking</i> ).															

Nastavak Tablice 15.

Virus	simptom	GLRaV-3	GLRaV-3, GFLV	GLRaV-3, GFLV, GLRaV-1	GLRaV-3, GLRaV-1, ArMV	GFLV	GLRaV-3, GLRaV-1	GLRaV-3, GLRaV-1, GLRaV-4-9	GLRaV-3, GFLV, GLRaV-1	GLRaV-3, ArMV, GFLV, GLRaV-3, GFLV, GLRaV-4-9	GLRaV-3, GFLV	GLRaV-3, GFLV, GLRaV-4-9	GLRaV-3, GLRaV-4-9	UKUPNO
GLRaV	kasnije otvaranje pupova	+	+	+		(+)	+	+		+			+	8 (1)
	slabiji razvoj mladica			+										1
	crvenilo među žilnog područja listova kod crnih kultivara													
	uvijanje listova prema naličju													
	žućenje među žilnog područja lista kod bijelih kultivara													
	smanjenje vigora													
	dozrijevanje grozdova kasni													
	zastoj rasta u vegetaciji	+		+	+	(+)	+			+	+	+		7 (1)
GLRaV-2	pojava guka, tj. zadebljanje na mjestu srastanja plemka/podloga													
Rugosa wood complex	pojava brazdi i udubina na centralnom cilindru (plemka/podloga)													
	pojava guka, tj. zadebljanje na mjestu srastanja plemka/podloga													
	uvijenost, žućenje i crvenilo listova													
	smanjen vigor													
	kasnije otvaranje pupova													
	iznenadno propadanje trsova													
k	prosvjetljenje žila													
	nastajanje pjega,													
	listovi naborani													
	deformirani													
	uvijanje listova													
	zastoj u rastu								+	+	+			3
	<b>UKUPNO:</b>													16

\*(+) simptom nije svojstven za virus/e u kombinaciji \*\* (2) zbroj netipičnih simptoma za taj virus

**Tablica 16.** Raznolikost simptoma uslijed zaraza različitim virusima kultivara **Trnjak** u kolekcijskom nasadu *Višići*.

KULTIVAR: TRNJAK											
virus	simptom	GLRaV-1, GFkV	GLRaV-3	GLRaV-3, GLRaV-1	GFLV	GLRaV-3, GFLV	ArMV	GFkV	GLRaV-3, GFkV	0 (virus- tested)	UKUPNO
GFLV	deformiranost lista										
	asimetričnost, naboranost, pojačana nazubljenost lista		(+)*					+			1 (1)
	klorotična išaranost										
	nenormalno grananje rozgve/mladice (rašljanje, bifurkacije)										
	skraćenje internodija (nepravilan razvoj internodija, dvostruki nodiji)	(+)				+					1 (1)
	fascijacije (sraslice, izgledom podsjeća na dvije slijepljene mladice)										
	rast cik-cak	(+)				+					1 (1)
	manji broj grozdova koji su smanjeni veličinom, pucanje bobice				+						1
	grozdovi rehljaviti										
	neujednačeno dozrijevanje bobica	(+)	(+)		+	+			+		3 (2)
	formiranje manjeg broja bobica smanjene veličine										
	žuti mozaik, tj. žućenje koje može zahvatiti sve zelene dijelove (djelomičan ili kompletan)										
	nejednolično odrvnjavanje rozgve	(+)	(+)								(2)
	smanjenje veličine listova	(+)			+						1 (1)
	klorotična diskoloracija			(+)							(1)
listovi mogu imati krom žute mrlje duž vena ( <i>chrome yellow flecking</i> ).											

Nastavak Tablice 16.

Virus	simptom	GLRaV-1, GFkV	GLRaV-3	GLRaV-3, GLRaV-1	GFLV	GLRaV-3, GFLV	AFMV	GFkV	GLRaV-3, GFkV	0 (virus- tested)	UKUPNO
GLRaV	kasnije otvaranje pupova	+	+		+	+	+				5
	slabiji razvoj mladica			+							1
	crvenilo među žilnog područja listova kod crnih kultivara										
	uvijanje listova prema naličju										
	žučenje među žilnog područja lista kod bijelih kultivara										
	smanjenje vigora										
	dozrijevanje grozdova kasni			+							1
	zastoj rasta u vegetaciji	+	+	+	+		+		+		6
GLRaV- 2	pojava guka, tj. zadebljanje na mjestu srastanja plemka/podloga										
Rugosa wood complex	pojava brazdi i udubina na centralnom cilindru (plemka/podloga)										
	pojava guka, tj. zadebljanje na mjestu srastanja plemka/podloga										
	uvijenost, žučenje i crvenilo listova										
	smanjen vigor										
	kasnije otvaranje pupova										
	iznenadno propadanje trsova										
GFkV	prosvjetljenje žila										
	nastajanje pjega										
	listovi naborani										
	deformirani										
	uvijanje listova										
	zastoj u rastu	+							+		2
	<b>UKUPNO:</b>	11 (2)									23 (9)**

\*(+) simptom nije svojstven za virus/e u kombinaciji \*\* (2) zbroj netipičnih simptoma za taj virus

**Tablica 17.** Raznolikost simptoma uslijed zaraza različitim virusima kultivara **Žilavka** u kolekcijskom nasadu *Višići*.

KULTIVAR: ŽILAVKA									
virus	simptom	GLRaV-3	GLRaV-3, ArMV	GLRaV-3, GFLV	GLRaV-3, GFLV	GLRaV-3, ArMV, GFLV	GLRaV-3, GLRaV-1	ArMV	UKUPNO
GFLV	deformiranost lista	(+)*							(1)
	asimetričnost, naboranost, pojačana nazubljenost lista	(+)		(+)	+		(+)		1 (3)
	klorotična išaranost			(+)					(1)
	nenormalno grananje rozgve/mladice (rašljanje, bifurkacije)								
	skraćenje internodija (nepravilan razvoj internodija, dvostruki nodiji)	(+)	+	(+)	+	+	(+)	+	4 (3)
	fascijacije (sraslice, izgledom podsjeća na dvije slijepljene mladice)								
	rast cik-cak	(+)	+						1 (1)
	manji broj grozdova koji su smanjeni veličinom, pucanje bobice	(+)	+	(+)			(+)	+	3 (2)
	grozdovi rehuljavi								
	neujednačeno dozrijevanje bobica	(+)							(1)
	formiranje manjeg broja bobica smanjene veličine		+	(+)					1 (1)
	žuti mozaik, tj. žućenje koje može zahvatiti sve zelene dijelove (djelomičan ili kompletan)	(+)	+	(+)					1 (2)
	nejednolično odrvenjavanje rozgve	(+)	+		+	+			3 (1)
	smanjenje veličine listova								
	klorotična diskoloracija	(+)	+		+				2 (1)
listovi mogu imati krom žute mrlje duž vena ( <i>chrome yellow flecking</i> ).									

Nastavak Tablice 17.

Virus	simptom	GLRaV-3	GLRaV-3, ArMV	GLRaV-3, GFkV	GLRaV-3, GFLV	GLRaV-3, ArMV, GFLV	GLRaV-3, GLRaV-1	ArMV	UKUPNO
GLRaV	kasnije otvaranje pupova	+	+	+					3
	slabiji razvoj mladica								
	crvenilo među žilnog područja listova kod crnih kultivara								
	uvijanje listova prema naličju								
	žučenje među žilnoga područja lista kod bijelih kultivara								
	smanjenje vigora								
	dozrijevanje grozdova kasni	+	+	+	+				4
	zastoj rasta u vegetaciji	+	+	+	+	+			5
GLRaV- 2	pojava guka, tj. zadebljanje na mjestu srastanja plemka/podloga								
Rugosa wood complex	pojava brazdi i udubina na centralnom cilindru (plemka/podloga)								
	pojava guka, tj. zadebljanje na mjestu srastanja plemka/podloga								
	uvijenost, žučenje i crvenilo listova								
	smanjen vigor								
	kasnije otvaranje pupova								
	iznenadno propadanje trsova								
GFkV	prosvjetljenje žila								
	nastajanje pjega			+					1
	listovi naborani								
	deformirani								
	uvijanje listova								
	zastoj u rastu			+					1
	<b>UKUPNO:</b>	13 (3)							30 (17) **

\*(+) simptom nije svojstven za virus/e u kombinaciji \*\* (2) zbroj netipičnih simptoma za taj virus



## 5. RASPRAVA

Terenskim istraživanjem i uzorkovanjem provedenim 2011. godine u dva hercegovačka vinogorja, smještenim u šest općina na prostoru dviju županija (Zapadnohercegovačke i Hercegovačko-neretvanske) u Federaciji Bosni i Hercegovini, u ukupno dvadeset vinograda sakupljeno je 1332 uzoraka autohtonih kultivara vinove loze.

Visoka zastupljenost virusa u testiranim uzorcima iz hercegovačkoga vinogorja može se velikim dijelom povezati s nedovoljno kvalitetnim sadnim materijalom. Naime poznato je da pojedini vinogradi, u kojima je vršeno prikupljanje uzoraka u ovoj studiji, potječu iz 60-ih godina prošloga stoljeća, pa se može pretpostaviti da korišteni sadni materijal nije bio niti kategorije CAC. Starost trsova u vinogradima u vrijeme istraživanja kretala se od 5 do 40 godina. Većina vinograda odabranih za istraživanje bili su homogeni u smislu starosti, ali su većinom bili heterogeni u smislu sortimenta jer su sadržavali po nekoliko kultivara, ili se radilo o autohtonim kultivarima ili alohtonim. Najzastupljeniji u studiji, s gotovo polovicom (47,29 %) od ukupna broja testiranih uzoraka, bili su uzorci dvaju najvažnijih autohtonih hercegovačkih kultivara, Žilavke i Blatine. Od toga ukupna broja uzoraka Žilavke i Blatine 41% činili su uzorci ta dva kultivara uzeti s trsova iz vinograda uključenih u pozitivnu masovnu selekciju (početak klonske selekcije). Najbrojniji je prateći autohtoni kultivar Trnjak činio 23,19 % od broja prikupljenih uzoraka u ovom istraživanju, dok su tri manje zastupljena prateća autohtona kultivara činili 29,49 % u ukupnom broju od 1332 analizirana trsa (Bena 12,46 %, Dobrogostina 8,78 % i Krkošija 8,25 %). Istraživanje se temeljilo na pretpostavci da je unatoč očekivanoj visokoj opterećenosti autohtonoga sortimenta vinove loze virusima ipak moguće pronalaženje i zdravih trsova koji bi mogli poslužiti kao osnova za inicijaciju proizvodnje kvalitetna sadnoga materijala. U skladu s tim izabran je ranije navedeni skup atraktivnih autohtonih kultivara i većina uzrokovanih trsova nije imala vidljive simptome viroza. Pretpostavka je potvrđena i nađeno je 179 (13,4 %) uzoraka vinove loze u kojima nisu detektirani testirani virusi (*virus-tested*). Najviše uzroka u kojima nisu detektirani virusi bilo je kod kultivara Trnjak (čak njih 84 od ukupno 309 analiziranih iz toga kultivara), 45 ih je bilo kod Blatine, 32 kod Žilavke, 11 kod Bene i 7 kod Dobrogostine, dok kod kultivara Krkošija ni jedan uzorak nije bio bez virusa.

Rezultati istraživanja viroza vinove loze iz susjednih zemalja poslužili su kao osnova za usporedbu sa zatečenim stanjem viroza u hercegovačkom vinogorju otkrivenim u ovom radu koji je, nakon nekoliko parcijalnih istraživanja stanja u pojedinim regijama i na pojedinačnim kultivarima u BiH (Festić i Šutić, 1977; Buturović i Klindić, 1977; Delić i sur., 2007; Lasić i sur., 2010), prvi cjelovito obradio pojavnost 9 viroza u hercegovačkom vinogorju na svih 6 najvažnijih autohtonih kultivara. Učestalost pojave virusa, većinom temeljena na primjeni metoda ELISA (kakvi su u dijagnostici virusa vinove loze primjenjeni i u ovom radu), varira u različitim regijama uzgoja loze, ali u BiH bliskim regijama prevladavaju iste ili srodne virusne vrste koje su nađene i ovom studijom. U LR skupini virusa u testiranim uzorcima utvrđena je zastupljenost virusa iz porodice *Closteroviridae* izrazito veća (95,36 %) u odnosu na *Comoviridae* (38,82 %) i *Tymoviridae* (14,79 %). Unutar virusne porodice *Closteroviridae* među detektiranim virusima dominirali su predstavnici roda *Ampelovirus*, posebice Podgrupa I (88,37 %), a potom virusi iz Podgrupe II (6,76 %). Virusi iz roda *Closterovirus* imali su malu pojavnost (0,23 %), dok *Velarivirus* nisu detektirani u ovom istraživanju. Unutar roda *Ampelovirus* virus GLRaV-3 iz Podgrupe I ima veću pojavnost (66,52%) nego virus GLRaV-1 (22 %) u okviru od 1332 analizirana uzorka.

Suprotno podacima Delić i sur. (2007) u čijoj je studiji provedeno testiranje na 76 uzoraka u Hercegovini (autohtoni kultivari: Blatina, Žilavka, Bena, te alohtoni kultivari: Vranac, Gamay, Moldavia, Smederevka) gdje su dobiveni rezultati ukazali na dominantnost virusa GLRaV-1 (47,37 %), ova studija na 1332 uzorka na isključivo 6 autohtonih kultivara (Žilavka, Blatina, Bena, Krkošija, Dobrogostina, Trnjak) ukazuje na dominantnost GLRaV-3 (66,52 % pozitivnih uzoraka) u odnosu na GLRaV-1 (22 % pozitivnih uzoraka) unutar Podgrupe I roda *Ampelovirus*. Ako bi iz spomenute studije izuzeli rezultate koji se odnose na alohtone kultivare, ostaju rezultati 48 uzoraka kultivara Blatina, Žilavka i Bena. Analizirajući izdvojeni dio rezultata te studije Delić i suradnika (2007), uočava se blago smanjenje razlike u dominantnosti GLRaV-1 u odnosu na GLRaV-3 s 18,36 % na 16,58 %, ali i dalje u korist GLRaV-1.

Međutim rezultati su dobiveni u ovoj studiji, a i u studiji Lasića i sur. (2010), u skladu s dobivenim rezultatima istraživanja provedenim na autohtonim kultivarima Istre (Poljuha i sur., 2004), te također kasnijim testiranjem istih autora iz 2010., kao i s onima Peršurića i sur., (2005), te s ishodima istraživanja provedenim na autohtonim kultivarima Dalmacije (Zdunić i sur., 2007; Karoglan Kontić i sur., 2009a; Karoglan Kontić i sur., 2009b; Vončina i sur., 2009; Vončina i sur., 2009b; Vončina, 2011.). Rezultati tih studija, ali i svih ostalih ranije provedenih istraživanja potvrđuju činjenicu da je GLRaV-3 najučestaliji virus u priobalnom,

mediteranskom dijelu Hrvatske. Spomenuta istraživanja, ali i brojna druga istraživanja zdravstvenoga stanja vinove loze provedena u Alžiru, Cipru, Grčkoj, Malti, Maroku (Digiario i sur., 2000) te u Italiji (Savino i sur. 2001), idu u prilog činjenici da je GLRaV-3 dominantan virus na području Mediterana, dok se prema sjevernijim vinogradarskim područjima smanjuje njegova učestalost, a počinje dominirati GLRaV-1 (Maixner, 2005; Savino i sur., 2001; Credi i Giunchedi, 1996). Rezultati se ovog istraživanja u hercegovačkom vinogorju većim dijelom podudaraju i s rezultatima publiciranim u radu Giovanna i sur. (2015) koji su istraživali različite autohtone kultivare u južnoj talijanskoj regiji Kalabriji. Postotak se zaraze u navedenom istraživanju kretao od udjela za GVA od 37,4 % pa sve do GVB s 0,3 % pojavnosti (32,6 % GLRaV-3; 12,8 % GFLV; 7,7 % GFkV; 7,3 % GLRaV-1; 1,9 % GLRaV-2); uz napomenu da virus ArMV u tom istraživanju nikada nije pronađen, ali u jednoj drugoj studiji (Materazzi i sur., 2009) kod pratećega autohtonog kultivara iz regije Garfagnan (Italija) ArMV detektiran u 56,5 % istraživanih uzoraka. Značajna je razlika u tome što je u hercegovačkim vinogorjima dominantan virus GLRaV-3, koji je na drugom mjestu po dominaciji u pokrajini Kalabriji, dok je tamošnji dominirajući virus GVA.

Rezultati do kojih se došlo ovim istraživanjem pojavnosti viroza vinove loze u hercegovačkim vinogorjima, jasno pokazuju da je vinova loza u tom podneblju često zaražena tom grupom patogena, te da su virusi prisutni u svim istraživanim (6) autohtonim kultivarima. U pogledu zastupljenosti virusa na pojedinim kultivarima u istraživanim vinogradima (20), nađene su značajne razlike. Najveći broj trsova slobodan od svih istraživanih virusa utvrđen je, kako je istaknuto ranije, kod kultivara Trnjak (ukupno 84 trsa iz 8 različitih vinograda). Slijedili su kultivari Blatina i Žilavka koji su istraživani u 6 vinograda gdje je utvrđeno 45 trsova kultivara Blatine i 32 trsa kultivara Žilavka slobodnih od detektiranih virusa. Nasuprot tome provedenim analizama utvrđeno je da kod kultivara Dobrogostina i Krkošija koji su se istraživani u 5 vinograda, nađeno 7 trsova kultivara Dobrogostina (6,4 %) slobodnih od istraživanih virusa, te da kod kultivara Krkošija nije nađen ni jedan bezvirusni trs (bili su uglavnom zaraženi barem virusom GLRaV-3 samostalno ili u miješanim zarazama). Kod kultivara Bena u 4 istraživana vinograda utvrđeno je ukupno 11 (6,6 %) trsova slobodnih od istraživanih virusa. Slična situacija bila je s kultivarima Žilavka (11,5 %) i Blatina (12,8 %), dok je uvjetno prihvatljiv sanitarni status ustanovljen kod Trnjaka gdje je gotovo 28 % biljaka bilo slobodno od svih istraživanih virusa. Ta distribucija virusa kao i relativno visok broj jednostrukih u odnosu na miješane zaraze potvrđuje podatke iz literature o diferencijalnoj distribuciji virusa u odnosu na klimu i geografsku širinu u drugim zemljama (Digiario i sur., 1999.; Savino i sur., 2002). Unatoč činjenici da su ispitivani trsovi hercegovačkih autohtonih

kultivara vinove loze izvan kolekcijskoga nasada *Višići*, bili većinom bez jasnih simptoma viroza, dobiveni rezultati otkrivaju visoke stope zaraženosti, naročito pojedinim virusnim vrstama. Prisutan širok dijapazon virusa i ako jasni simptomi izostaju potvrđuje činjenicu da simptomi sami za sebe na vinovoj lozi ne mogu biti pouzdani dijagnostički pokazatelj zaraženosti virusima (Vončina, 2011). Važno je detektirati uzročnike virusnih blesti, posebno kada trsovi ne pokazuju tipične simptome, jer su nedetektirani pozitivni trsovi (npr. bez jasnih simptoma) izvor infekcije i širenja virusa, ako se ne identificiraju i ne eliminiraju iz vinograda.

Promatrajući dobivene rezultate, a posebice dovodeći u vezu virusne zaraze – kultivar – lokalitet/vinograd, može se uočiti da je kod svih kultivara na svim lokalitetima/vinogradima daleko najčešće detektiran virus GLRaV-3 nađen u 66,37 % uzoraka i to u svim vinogradima (11 lokacija). Izuzetak od ove tvrdnje pojavljuje se kod kultivara Blatina na lokalitetima vinograd br. 5. I 19. U tim vinogradima pojavnost GFLV (96,15 % i 86 %) bila je značajno veća od GLRaV-3 (50 % i 58 %). Značajno veća pojavnost GFLV (83,02 %) u odnosu na GLRaV-3 (28,30 %) utvrđena je i kod kultivara Trnjak na lokalitetu vinograd br. 10. Slično je bilo u još dva vinograda u kojima je uzorkovano u svakom po 50 uzoraka (br.19. i br.13.) gdje je na kultivaru Trnjak utvrđena veća pojavnost GFLV (14 % i 38 %) u odnosu na inače dominirajući GLRaV-3 (8 % i 30 %). U vinogradima br. 11. I br. 5. na kultivaru Trnjak razlika u pojavnosti virusa GFLV (33,33 % i 37,50 %) u odnosu na GLRaV-3 (6,67 % i 0) je moguće manja, zbog manjega broja ukupno uzetih uzoraka (15 i 8). Dakle može se reći da je na kultivaru Trnjak u 5 vinograda (od ukupno 8 istraživanih) veća učestalost zaraze bila ona s GFLV (36,24 %) u odnosu na pojavnost GLRaV-3 (31,71 %). Kod kultivara Bena jedan vinograd Rasadnik (vinograd 7.) ima istu pojavnost GLRaV-3 i GFLV (68,97 %). U svim ostalim testovima virus GLRaV-3 imao je dominantnu pojavnost. Najveći postotak zaraze s GLRaV-3 kod 6 istraživanih autohtonih hercegovačkih kultivara utvrđen je kod kultivara Dobrogostina (93,16 %), potom kod dva kultivara Bena (87,35 %) i Žilavka (82,01 %). Podjednako visok postotak zaraze s GLRaV-3 utvrđen je kod kultivara Krkošija (70,90 %) i Blatina (64,20 %), dok je najmanja učestalost utvrđena kod kultivara Trnjak (31,71 %). Njegova prisutnost nije utvrđena na dva lokaliteta u općini Ljubuški. GLRaV-3 nije detektiran u vinogradu br.1. na kultivaru Krkošija, ni u vinogradu br. 5. na kultivaru Trnjak. Naime, GLRaV-3 osim zaraženim sadnim materijalom prenosi se i vektorima, stoga bi se dominacija toga virusa u provedenom istraživanju mogla pripisati utjecaju vektora (štitaste uši). Budući da u istraživanju nije determiniran utjecaj vektora na distribuciju virusa, pretpostavka da je učestalost infekcije posljedica širenja vektora, u ovom istraživanju, ne može biti potkrjepljena.

U daljnjem radu bilo bi potrebno provesti dodatna istraživanja i determinaciju prisutnih vektora virusa vinove loze, te razviti strategiju praćenja i suzbijanja vektora na području Hercegovine i povezati s distribucijom virusa. Dominantnost GLRaV-3 potvrđena je u sličnim studijama provedenim u Hrvatskoj (Poljuha i sur., 2004; Peršurića i sur., 2005; Zdunić i sur., 2007; Karoglan Kontić i sur., 2009a; Karoglan Kontić i sur., 2009b; Vončina i sur., 2009; Vončina i sur., 2009b; Poljuha i sur., 2010; Vončina, 2011) čija prisutnost varira u rasponu od 72,3 % do 100 % godine, kao i u onima provedenim u Alžiru, Cipru, Grčkoj, Malti i Maroku (Digiario i sur., 2000); onim iz srednje i južne Italije (Savino i sur., 2001 i Giovanna i sur. 2015), te brojim drugim u kojima je GLRaV-3 također potvrđen kao dominantan virus, očito se radi o najrasprostranjenijem virusu na području mediteranskoga bazena. U prilog toj činjenici idu i rezultati studije iz Tunisa koja također bilježi GLRaV-3 kao najrašireniji virus (76,3 %) koji inficira trsove u njihovim vinogradima, a slijede ga GLRaV-4-like virusi (GLRaV-5, -6), a potom GLRaV-1, GLRaV-2 i GLRaV-7, s tim da se zadnja tri virusa pojavljuju u manje od 10 % infekcija (Mahfoudhi i sur. 2008). S druge strane, Turska studija pokazuje veću prisutnost GLRaV-1 u njihovim vinogradima u usporedbi s GLRaV-3 (Akbas i sur., 2007), što je razlika u odnosu na hercegovačke vinograde u kojima je taj virus na trećem mjestu po pojavnosti.

Iza GLRaV-3 po učestalosti pojave virusa u Hercegovini slijedio je virus GFLV (37,54 %). Taj virus jedino kod kultivara Trnjak ima utvrđenu veću pojavnost od 36,24 % u odnosu na virus GLRaV-3 (31,71 %). Kod kultivara Bena (19,27 %) i Krkošija (40,90 %) GFLV je na trećem mjestu učestalosti. Virus GLRaV-1 kod ta dva kultivara (25,30 % i 64,56 %) je drugi virus po pojavnosti, odmah iza virusa GLRaV-3. On je utvrđen na svim lokalitetima i u svim istraživanim kultivarima, osim na kultivaru Krkošija jednoga lokaliteta u općini Ljubuški (Zgoni; vinograd br. 1.). Radi se o posebice zanimljivom vinogradu (br. 1) u kojem nije detektirana prisutnost dvaju inače najučestalijih virusa, GLRaV-3 i GFLV. U tom je vinogradu najveću učestalost imao virus GLRaV-1.

Potvrđen kao treći virus po zastupljenosti u provedenom istraživanju, GLRaV-1 je detektiran u ukupno 293 uzorka (22 %). Kod kultivara Bena (25,30 %) i Krkošija (64,56 %) taj je virus drugi po učestalosti, odmah iza virusa GLRaV-3. Štoviše, u vinogradu br. 1. čak 92 % uzoraka kultivara Krkošija sadržavalo je taj virus (testirano je 25 trsova). Tako visok postotak infekcije GLRaV-1 predstavlja izuzetak. Prisutnost GLRaV-1 nije potvrđena u vinogradu br.19 na kultivaru Blatina, dok je u istom tom vinogradu na kultivaru Trnjak, GLRaV-1 bio dominantan virus, kao i na kultivaru Trnjak u vinogradima br. 20 i br. 6., gdje GLRaV -1 dominantnu pojavnost dijeli s GLRaV-3. U četiri je vinograda GLRaV-1 na drugom

mjestu po pojavnosti i to u dva vinograda (br. 6. I 16.) na Beni, u vinogradu br.8 na Krkošiji i u vinogradu br. 11. na Trnjaku, dok u tri vinograda drugu najveću učestalost dijeli (s GFLV u vinogradu br. 20 na Beni i u vinogradu br.17. na Krkošiji; s GLRaV-3 u vinogradu br. 10 na Trnjaku). Na ukupno 50 uzoraka kultivara Trnjak u vinogradu br. 13. drugo mjesto po pojavnosti virus GLRaV-1 dijeli s GLRaV-3 i GFkV. U čak je sedam vinograda GLRaV-1 na četvrtom mjestu učestalosti i to na kultivaru Blatina (vinogradi br. 5., 13., 14.), na kultivaru Žilavka (vinogradi br. 12., 20.), na kultivaru Bena (vinograd br. 7.) i kultivaru Dobrogostina (vinograd br. 18).

Pojavnost tri virusa GLRaV-3, GFLV i GLRaV-1 u ukupnom zbroju pojedinačnih infekcija (**47,3 %**) autohtonih hercegovačkih kultivara je najveća i iznosi 95,8 % pojavnosti. Miješane infekcije s dva virusa (**36,6 %**) u ovoj studiji bilježe da su kombinacije s najvećim postotkom pojavnosti upravo spomenuta tri virusa: i to 47,3 % otpada na GFLV $\leftrightarrow$ GLRaV-3 kombinaciju i 18,2 % na GLRaV-1 $\leftrightarrow$ GLRaV-3 kombinaciju. Isto se ponavlja u miješanim infekcijama s tri virusa, gdje od 155 trsova (**13,4 %**) kombinacija GFLV $\leftrightarrow$ GLRaV-1 $\leftrightarrow$ GLRaV-3 čini 31,6 % pojavnosti. Budući da u ovom pregledu nema odstupanja u dominaciji pojavnosti ta tri virusa i u kombinaciji s četiri virusa (**2,4 %**) dvije virusne kombinacije GFLV $\leftrightarrow$ GLRaV-1 $\leftrightarrow$ GLRaV-3 $\leftrightarrow$ GFkV i GFLV $\leftrightarrow$ GLRaV-1 $\leftrightarrow$ GLRaV-3 $\leftrightarrow$ GLRaV-4-9 čine 57,1 % pojavnosti. Isto je i kod miješanih infekcija s pet virusa u kombinaciji (**0,25 %**), gdje virusna kombinacija GFLV $\leftrightarrow$ GLRaV-1 $\leftrightarrow$ GLRaV-3 $\leftrightarrow$ GFkV $\leftrightarrow$ GLRaV-4-9, čini 66,7 % pojavnosti. Slično istraživanje provedeno u Dalmaciji (Vončina 2011) pokazuje da dva virusa GLRaV-3 i GLRaV-1 imaju dominaciju u pojavnosti miješanih infekcija zajedno s GVA. U oba istraživanja (vinogradi iz Dalmacije i vinogradi Hercegovine) zamijećena je podudarnost koja se očituje kroz činjenicu da za tri virusa koja su dominantna po pojavnosti u istraživanju, njihova se dominacija proteže i u svim kombinacijama miješanih infekcija. U hercegovačkim vinogradima od ukupno 32 istraživanjem utvrđene kombinacije (s dva, tri, četiri i pet virusa) u 31 kombinaciji miješanih infekcija pojavljuju se LR virusi. Virusi iz skupine uvijenosti lišća ostvaruju velike zaraze i na području Dalmacije (Vončina i sur., 2009, Vončina 2011), ali i na području Istre, gdje su virusi iz skupine uvijenosti lišća pronađeni na gotovo svim istraživanim lokalitetima (Poljuha i sur., 2010). Turska studija (Akbas i sur., 2007) zabilježila je da su miješane infekcije uobičajene kod loza pogođenih s virusima povezanim s LR-om i detektirane su miješane infekcije između različitih GLRaV-a. Jasno je da su u određenim dijelovima svijeta određeni virusi dominantni u pojavnosti. Stoga treba proučiti utjecaj štitastih ušiju, vektora LR na učestalost prijenosa

različitih LR virusa (Jooste i sur. 2015), ali i drugih vektora (nematode) drugih virusnih vrsta i njihovih populacija.

Nakon GLRaV-1 po pojavnosti u ovom istraživanju slijedi GFkV, koji je detektiran na ukupno 197 uzoraka (14,79 %) i to u svim istraživanim kultivarima. GFkV je nađen u najviše uzoraka kultivara Blatina (72 uzorka; 20,45 %) što ga čini trećem najčešćim virusom (od 10 istraživanih) kod toga kultivara. Na sedam lokacija nije detektiran [tri lokacije Trnjka (vinogradi: 10., 5., 19.), dvije lokacije Dobrogostine (vinogradi: 2., 4.) i po jedna lokacija Krkošije (vinograd 4.) i Žilavke (vinograd 9.)]. Najniži postotak pojavnosti toga virusa zabilježen je kod kultivara Dobrogostina (16 uzoraka; 7,69 %). Učestalost tih virusa po lokacijama/vinogradimakretao se od 4,55 % do 38 %. Najniža i najveća učestalost u istraživanju zabilježena je u vinogradu br. 13., gdje je detektiran u svega dva trsa kultivara Žilavka (od ukupno 44 trsa) i u 19 trsova kultivara Blatina (od ukupno 50 trsova). U četiri vinograda GFkV bio je na drugom mjestu pojavnosti [na kultivaru Krkošija (vinograd br. 1), na kultivaru Trnjak (vinograd br. 13.) te na kultivaru Žilavka (vinograd br. 16.)], dok drugo mjesto dijeli s virusima LR (GLRaV-1, GLRaV-3, GLRaV-4-9) na kultivaru Trnjak (vinograda br. 13.) i s GFLV na kultivaru Žilavka (vinograd br. 20.). Na trećem mjestu učestalosti taj virus zabilježen je u šest vinograda: na kultivaru Blatina (vinogradi br. 5., 13., 14., 19.), na kultivaru Žilavka (vinograd br. 6.) i kultivaru Dobrogostina (vinograd br.18.), dok četvrto mjesto dijeli s GLRaV-3 na kultivaru Trnjak (vinograd br.11. i 20.), a s GFLV na kultivaru Trnjak (vinograd br. 11.) i kultivaru Žilavka (vinograd br. 13.), te s GLRaV-1 na kultivaru Blatina (vinograd br. 9.). Taj je virus na petom mjestu pojavnosti kod kultivara Krkošija (vinograd br. 20.) i kultivar Trnjak (vinograd br. 15.).

Po učestalosti detekcije u ovom istraživanju iza virusa GFkV slijedio je kompleks (skupina) virusa GLRaV-4-9, koji je detektiran u ukupno 90 trsova (6,76 %). Najveći postotak te zaraze imao je kultivar Krkošija s 16,36% pozitivnih testiranih uzoraka. U 10 vinograda ova skupina virusa nije detektirana. Budući da su za dokazivanje prisutnosti kompleksa (skupina) virusa GLRaV-4-9 korištena isključivo monoklonska protutijela za koje je dokazano da ne detektiraju sve sojeve navedenih virusa, nije isključena mogućnost da je pojava toga virusa podcjenjena.

Sagledavajući rezultate RT-PCR analize 27 odabranih uzoraka serološki pozitivnih (metode ELISA) na GLRaV-4-9 (Tablica 27. Priloga 4.) uz primjenu specifičnih početnica detektirana su dva virusa iz te skupine od pet virusa i to GLRaV-5 i GLRaV-9. Ukupno je 10 uzoraka bilo pozitivno, od čega su tri uzorka sadržavala oba virusa, dok je 6 uzoraka s detektiranim GLRaV-5 i 7 s GLRaV-9. Ostali virusi iz te grupe nisu detektirani.

Detekcija različitih virusa zasnovana je na komercijalnim početnicama dizajniranim na osnovu podataka o sekvencijama deponiranim u *GenBank* (Jooste i sur. 2015), stoga je etekcija limitirana na točnost i osjetljivost korištenih početnica i predstavljeni rezultati bazirani su na toj činjenici.

ArMV je na predzadnjem mjestu po učestalosti pojave u ovom istraživanju jer je detektiran u svega 17 trsova (1,28 %) i to u dva vinograda (br. 20 i br.17.). Dobiveni su niski postoci zastupljenosti toga virusa u skladu s rezultatima istraživanja na kolonskim kandidatima u Hrvatskoj (Kontić i sur., 2009a, 2009b), te u istraživanju Vončina i sur. (2011) gdje utvrđna 3,23 % njegove pojavnosti. Odsutpanje od tako niskih vrijednosti pojavnosti virusa ArMV kod autohtonih kultivara nalazimo u studiji Materazzi i sur. iz 2009., gdje je kod autohtonoga kultivara od manje važnosti u regiji Garfagnan (Italija) detektiran kod 56,5 % uzoraka. Razlog takva odstupanja može se tražiti u činjenici da je distribucija ArMV na istraživanom području ograničena na malo područje zbog karakteristike vektora *Xiphinema diversicaudatum* (Harrison i Winslow, 1961), što dovodi do niske učestalosti zbog čega virus nije mogao biti determiniran. Budući da je u Hercegovini do sada zabilježeno jedno istraživanje nematoda vektora virusa vinove loze (Buturović i Klindić, 1977), bilo bi uputno provesti istraživanje s ciljem utvrđivanja prisutnosti nematoda vektora virusa vinove loze. Prema navodima iz literature (Martelli i Boudon-Padieu, 2006; Vončina, 2011), vrste ArMV i GFLV često su zastupljene u mješovitim infekcijama zajedno. Učestalost ArMV u miješanim infekcije s GFLV-om u ovom istraživanju je 88,23 % i u skladu je s navodima iz literature. Budući da je determinacija ArMV metodom ELISA može uslijed heterogenosti virusnih izolata polučiti pomanjkanjem učinkovitosti detekcije tom metodom, istraživanje zastupljenosti toga virusa u autohtonim kultivarima Hercegovine treba nastaviti. Za kvalitetniju determinaciju toga virusa bilo bi uputno istražiti varijabilnost između izolata s različitih uzgojnih područja vinove loze i prilagoditi molekularne metode istom (López-Fabuel i sur., 2013).

Iako je GLRaV-2 u ovom istraživanju pronađen u manjem broju uzoraka (svega u 3 trsa; 0,23 %) ne treba zanemariti njegovu važnost odnosno probleme koje može uzrokovati u rasadničarstvu loznoga materijala. Naime GLRaV-2 pronađen je kod kultivara Dobrogostina (2 trsa) i kultivara Krkošija (1 trs), što također ne mora značiti da je prisutan na drugim lokalitetima i drugim kultivarima u Hercegovini koji nisu obuhvaćeni ovim istraživanjem. GLRaV-2 je prvobitno povezivan s uvijenosti lista vinove loze (Gugerli i sur., 1984). Kasnije je utvrđeno da na kultivarima cijepljenim na podlogu K5BB inducira inkompatibilnost podloge i plemke (eng. *Graft incompatibility*) u francuskim i talijanskim vinogradima (Greif i



sur., 1995). Na području je Kalifornije i Novoga Zelanda taj virus inducirao spojnu inkompatibilnost i venuće (eng. *Union-incompatibility, decline*), kod osjetljivih podloga potpuno venuće (eng. *California's young vine decline, quick decline*; Uyemoto i sur., 2001; Bonfiglioli i sur., 2003; Martelli i Boudon-Padieu, 2006; Martelli i Gallitelli, 2008) i lezije podloge (eng. *Rootstock stem lesion*; Meng i sur., 2005; Greif i sur., 1995; Uyemoto i sur., 2001; Bonfiglioli i sur., 2003; Bertazzon i Angelini, 2004; Bertazzon i sur., 2010; Alkowni i sur., 2011). GLRaV -2 je u ovom istraživanju potvrđen RT-PCR metodom uz primjenu specifičnih početnica (GLR2CP1/GLR2CP2; Abou Ghanem-Sabanadzovic i sur. 2000). Predstoje daljnja istraživanja u kojima će se napraviti karakterizacija detektiranih virusnih izolata s obzirom na to da se oni mogu razlikovati u simptomima i patogenosti na koje utječu genetske karakteristike virusa (Bertazzon i sur., 2010).

Iako virusi GVA i GVB, kao i pojedine vrste virusa iz kompleksa LR (GLRaV-4, -6, -7) u ovom istraživanju nisu pronađeni, ne treba zanemariti njihovu važnost u sanitarnom statusu vinove loze. Slično su i Mslmanieh i sur. (2006) utvrdili nepostojanje GVB na sirijskim autohtonim kultivarima, i svega jedan (0,1 %) pozitivnih uzorak na ArMV od ukupno relativno velikoga broja od 736 uzoraka. Naime u ovom istraživanju na autohtonim hercegovačkim sortama za detekciju virusa GVA korišteni su komercijalni kompleti reagensa (Bioreba) s poliklonskim IgG za oblaganje i poliklonski i monoklonski konjugirana protutijela. Za detekciju GLRaV-7 korišten je komplet reagensa (Agritest) s poliklonskim i monoklonskim protutijelima, dok su za detekciju GVB korištena monoklonska protutijela istoga proizvođača. Detekcija virusa ograničena preciznošću i osjetljivošću upotrijebljenih primarnih i sekundarnih protutijela. Budući da su za dokazivanje prisutnosti GVA i GVB korištena komercijalna monoklonska protutijela koja ne mogu detektirati sve sojeve navedenih virusa, nije isključena mogućnost njihove prisutnosti u hercegovačkim vinogradima. U budućim bi se istraživanjima metode ELISA mogle provesti s komercijalnim dijagnostičkim kompletima (*kitovi*) drugih kemijskih kuća za te viruse. U prilog su tomu i rezultati istraživanja Faggioli i sur. (2012) koji vrijednostima validacijskih parametara pokazuju da postoje razlike između osjetljivosti, specifičnosti i preciznosti kod pojedinih virusa između korištenih kitova triju kemijskih kuća: Agritest (Italia), Bioreba (Švicarska) i Sediag (Francuska). Primjerice za virus GVA najveće vrijednosti validacijskih parametara imaju kitovi Sediag, potom Agritest, dok Bioreba kitovi imaju niske vrijednosti.

U okviru osam vizualnih pregleda trsova autohtonih kultivara (6) (prethodno testiranih na viruse serološkim testovima) u kolekcijskom nasadu *Višići* obavljenih tijekom vegetacije od 2011. do 2013. godine, zabilježeno je ukupno 38 različitih simptoma. Pojedini uočeni

simptomi mogli bi biti uzrokovani i različitim drugim biotskim, ali i abiotskim čimbenicima. Želeći povezati rezultate preciznih laboratorijskih dijagnostičkih testova i pojavu vidljivih simptoma na virotičnim kultivarima ova studija naglašava važnost preciznoga detektiranja virusa u autohtonim kultivarima koji imaju širok raspon viroza, iako simptomi na biljkama nisu specifični za pojedinu virozu niti su često izraženi u jasnom obliku. Neki od simptoma koji su u ovom istraživanju uočeni u kolekcijskom nasadu *Višići*, nalikovali su promjenama koje su mogli uzrokovati i neki drugi patogeni, štetnici ili abiotski čimbenici. U prilog navedenom idu i rezultati istraživanja Delić i sur. (2013) provedenih na području Hercegovine kada je utvrđena pojavnost fitoplazme BN '*Bois noir*', tj. Stolbur ('*Candidatus Phytoplasma solani*') u šest autohtonih kultivara (Blatina, Žilavka, Trnjak, Krkošija, Bena, Dobrogostina) i 12 alohtonih kultivara. Nadalje opaženi zastoj u kretanju vegetacije kao i stvaranje skraćenih internodija u cik-cak obliku mogu uzrokovati akarinozne grinje (Ciglar, 1998; Maceljški, 1999; Masten Milek i Masten, 2009). Uočeni simptom zastoja u rastu može biti posljedica prisutnosti uzročnika crne pjegavosti, mikrogljive *Phomopsis viticola* (Sacc.) Sacc., kada su vidljivi problemi u rastu i razvoju mladice, a grozdovi ostaju manji. Također i simptomi mikoze uzrokovane vrstom *Eutypa lata* (Pers.) Tul. I C.Tul mogu su zamijeniti s posljedicama zaraze virusom lepezavosti lista, jer se ti simptomi na napadnutim trsovima često manifestiraju na mladicama u vidu skraćivanja internodija, zbog čega trs poprima grmolik izgled (Cvjetković 2010). Početni simptomi zaraze gljivom *Pseudopeziza tracheiphila* (Müll.-Turgau) Kofr.& W. Y. Zhang, mogu se zamijeniti sa znakovima bolesti koju uzrokuju pojedini virusi iz skupine uzročnika crvenila lišća.

Točno dijagnosticiranje bolesti vinove loze iziskuje puno znanja i stručnoga iskustva, a većinu ih nije moguće odrediti bez primjene laboratorijskih analiza, što je svakako slučaj s virozama i bakteriozama. Simptomi su u vinogradu rijetko jedinstveni za određenu bolest, čak i u spektru mikoza i bakterioza, a slika bolesti može biti dodatno usložnjena na razlikama u sortimentu te u slučajevima miješanih zaraza različitim patogenima. Ponekad zaražena loza ne pokazuje nikakve simptome koji bi mogli upućivati na loš zdravstveni status, dok u nekim slučajevima bolesti vinove loze pokazuju jasne simptome, pa ih je lakše uočiti na terenu. Primjerice crveno lišće može biti znak bolesti virusne bolesti, gljivične bolesti korijena, nedostatka hraniva, fizičkoga oštećenja ili oštećenja nastala hranidbom ličinki, odraslih kukaca ili glodavaca. Slično i nekroza može biti simptom nedostatka vode, nekroze tkiva nastala djelovanjem sumpora ili drugih šteta nastalih neadekvatnom primjenom sredstava za zaštitu bilja.

Kod mnogih virusnih bolesti vinove loze dijagnostički simptomi javljaju se u određeno godišnje doba. Uvijanje lišća, primjerice, simptom je crvenila lišća na crnim kultivarima vidljiv u kasno ljeto i jesen. Pregledamo li te kultivare u proljeće nećemo naići na tipične znakove bolesti. Zimi je, u vrijeme rezanja loze za razmnožavanje, vrijeme mirovanja vinove loze i praktički je nemoguće uočiti simptome virusne bolesti na terenu. Koncentracija patogena koji uzrokuju bolest može biti niska, pa se ne razvijaju nikakvi simptomi (npr. ELISA upitni uzorci) ili infekcija može biti na kultivaru koji je tolerantan na tu određenu bolest. Takve latentne infekcije mogu se otkriti samo pouzdanim metodama testiranja, što je važna okolnost kod prikupljanja reznica za razmnožavanje.

Nadalje, komercijalni serološki reagensi nisu na raspolaganju za sve viruse i koncentracija virusa kod vinove loze opada ispod praga detekcije za uobičajene dijagnostičke tehnike (ELISA ili biotestovi) posebice u predjelima s toplijim klimama (Digiario i sur. 2007). Stoga korištenje setova početnica za multipli detekciju virusa koji pripadaju različitim subgrupama, predstavlja koristan alat za poboljšanje osjetljivosti detekcije i smanjenju troškova tih analiza (Digiario i sur. 2007). To naglašava potrebu ovladavanjem točnim i osjetljivim metodama detekcije kako bi se trsovi podvrgli strogim ispitivanjima (*screen*), posebno kada će strogo kontrolirani sadni materijal biti distribuiran iz rasadnika proizvođačima (Jooste i sur. 2015).

Priroda je simptoma varijabilna i često je rezultat djelovanja više činilaca, što sugerira da postavljanje korektne dijagnoze samo na osnovu vizualnih inspekcija simptoma najčešće nepouzdana i potpuno neprihvatljivo. Ta činjenica ističe potrebu za preciznim i osjetljivim metodama detekcije, za analitičkim pregledom biljaka (*screening*), posebno sadnoga materijala koji će biti distribuiran od rasadničara ka proizvođačima. Zdravstvena kvaliteta sadnog materijala vinove loze ima najvažniji utjecaj na pojavnost i rasprostranjenje viroza u vinogorjima.

Provedenim istraživanjem simptomatologije prirodnih virusnih zaraza i analizom dobivenih podataka dobiven je uvid u raznolikost pojavnosti simptoma istraživanih virusa na autohtonim kultivarima. Svi testirani trsovi (ELISA rezultati) kolekcijskog nasada *Višići* imali su bar jedan od 22 istraživanjem utvrđena simptoma, s tim da su zdravi trsovi (*virus-tested*) kultivara Trnjak bili bez simptoma. Međutim kod zdravoga (*virus-tested*) trsa kultivara Bena zabilježena su dva simptoma: straćenja internodija i zastoj u kretanju vegetacije. Uzroci te pojave na tom trsu mogu biti posljedica prisutnosti akarinoznih grinja (Ciglar, 1998; Maceljki, 1999; Masten Milek i Masten, 2009) ili crne pjegavosti (Cvjetković 2010). Jer se

složenost infekcija virusima, posebice virusnih varijanti GLRaV-3 (Jooste i sur. 2015) očituje unatoč činjenici da su uzorkovani trsovi pokazivali simptome GLRaV-3, 20 % (uglavnom bijeli kultivari) od prikupljenih uzoraka vinove loze nije bilo inficirano s GLRaV-3. To implicira da kod određenih kultivara, koji ne pokazuju jasne/očite simptome, nije moguća točna identifikacija virusnih zaraza zasnovana na vizualnim inspekcijama vinograda (Jooste i sur. 2015).

Nadalje kod trsova svih kultivara zamijećena je pojava tipova simptoma koji se ne mogu povezati s virusom koji je detektiran na tom istom trsu. Primjerice simptomi koji se povezuju s prisutnosti *Nepovirusa* na trsovima koji imaju neki od LR virusa. Ta je pojava najviše uočena kod kultivara Dobrogostina i Krkošija. Za pretpostaviti je da uzrok navedenih promjena na tim trsovima neki drugi virus koji nije bio obuvaćen ovim istraživanjem.

Kod kultivara Krkošija i Blatina zamijećana je obrnuta situacija da su kod trsova u kojima je detektiran GFLV uočeni simptomi kao što je zastoj u kretanju vegetacije i zastoj u rastu, što je karakteristika LR virusa. U tim se slučajevima pretpostavlja da su navedeni simptomi posljedica prisutnosti grinja ili fitopatoloških mikoza.

Najviše različitih simptoma u ovoj studiji uočeno je kod trsova u kojima je detektiran samo jedan virus i to GLRaV-3, a potom po brojnosti različitih simptoma slijede trsovi inficirani kombinacijom virusa GLRaV-3⇔GFLV. Najmanja raznolikost simptoma nađena je na trsovima u kojima su pojedinačno detektirani ili virus GFkV ili ArMV.

Specifičnost je kultivara Blatine funkcionalno ženski cvijet<sup>4</sup> što kao posljedicu ima lošiju oplodnju. Vremenske prilike uvjetuju oplodnju Blatine, prije svega vlaga (potrebna je barem blaga kiša u vrijeme oplodnje) i temperatura (povoljne temperature su između 20 i 30 °C). Blatina treba oprašivača, a dobar je oprašivač u nasadima kultivar Alicante Bouschet koji je daleko bolji od kultivara Gamay Tenuinoir, dok je autohtoni kultivar Žilavka najbolji oprašivač iz razloga što se njezina cvatnja i cvatnja Blatine vremenski podudaraju. Utvrđeno je da kultivar Blatina cvjeta u hercegovačkom vinogorju između 20. svibnja i 15. lipnja tako da se simptomi na grozdovima (kojima se očituju prisutne viroze) kod kultivara Blatina ne mogu u potpunosti dovesti u vezu s virusima jer kultivar Blatina ima specifičnu oplodnju.

U radu Delić i sur. (2007), u dijelu koji se odnosi na simptomatologiju na istraživanim kultivarima, simptom uvijenosti listova je posebice jasno bio izražen kod crnih kultivara (Blatina). U istraživanju simptoma u ovom radu pojavljuju se neslaganja s rezultatima rada

---

<sup>4</sup> U cvijetu Blatine su prisutni rudimentirani prašnici koji se ne otvaraju i ne pucaju im vrećice te se polen ne oslobađa.

Delić i sur. (2007). U ovoj studiji na hercegovačkim kultivarima u kolekcijskom nasadu *Višići* nisu zabilježeni jasni simptomi u vidu uvijanja rubova lisne plojke prema naličju (epinastija), promjena koje su karakteristične za viruse iz kompleksa uvijenosti lista vinove loze iz porodice *Closteroviridae*. Uočena je promjena boje listova u crvenu uz pojavu uskoga zelenog pojasa duž osnovnih i srednjih vena na nižim listovima, za promjenu boje listova neuobičajenom dijelu vegetacije, a svakako prije početka ljeta što je karakteristika simptoma LR crnih kultivara (Martelli, 2010), ali bez epinastije karakteristične za viruse LR.

Takav je simptom jasno uočen samo kod bojadisera, npr. Game (Gamay Tenuinoir), koji su prisutni u vinogradima kao prateći. Dimitrijević u radu iz 1973. godine ističe da je poznato da zaraženi trsovi kultivara Game pokazuju veoma izražene simptome *leafroll* bolesti na listu, koji se očituju kroz prijevremenu promjenu boje listova u crveno i uvijenosti lista prema unutra. Premda razdoblje inkubacije bolesti LR može biti prilično dugačak, smatra se da nije duži od tri godine (Goheen i sur., 1958; Stellmach, 1968). Moglo bi se pretpostaviti da smo u kolekcijskom nasadu *Višići* imali vrlo izraženu toleranciju autohtonih kultivara na razvoj toga simptoma, tako da su oni bili nositelji virusa bez tipičnih simptoma LR na listu. Mala je vjerojatnost da su svi virotični trsovi u ispitivanom vinogradu kolekcije *Višići*, koji su bili stari oko 6 godina u vrijeme vizualnih inspekcija, bili zdravi prije sadnje jer je čak 97,2 % testiranih trsova u tom vinogradu u ovom istraživanju bilo virotično.

Uglavnom se smatra da je primarna virusna infekcija cijepova te da viroze općenito dolaze necertificiranim sadnim materijalom koji se koristi za sadnju novih vinograda. Unutar su vinograda zatim viroze sekundarno rasprostranjene, pri čemu sudjeluju vektori virusa, ektoparazitske nematode i štitaste uši (*mealybug*) vektori (Saldarelli, i sur. 2012a). Prijenos grupe virusa LR na terenu putem štitastih ušiju (porodice: *Pseudococcidae* – *mealybugs* (rodovi: *Heliococcus*, *Phenacoccus*, *Pseudococcus* i *Planococcus*) i nadporodice: *Coccidae* – *soft scale* (rodovi: *Pulvinaria*, *Nepulvinaria*, *Parthenolecanium*, *Coccus*, *Parassaissetia*, *Saissetia* i *Ceroplastes*) ima veliku ulogu u rasprostranjivanju tih viroza u vinogradima. U istraživanjima Ostojića i sur. (2010) navedeno je da su u hercegovačkim vinogradima prisutne štitaste uši iz porodice *Pseudococcidae*: *Planococcus ficus* (Signerot 1875), te iz porodice *Coccidae*: *Parthenolecanium corni* (Bouche, 1844), *Parthenolecanium persicae* (Fabricius), *Pulvinaria vitis* (Linnaeus), *Neopulvinaria innumerabilis* (Rathvon, 1854). Od tih se vrsta najčešće u vinogradima Hercegovine javlja: *Planococcus ficus* i *Parthenolecanium corni* (Ostojić, 2014), pa se može pretpostaviti da te vrste doprinose rasprostranjenju viroza unutar proizvodnoga područja.

Tri su različita tipa simptoma vidljiva na listovima vinove loze koja se mogu pripisati prisutnosti GFLV: prosvjetljavanje žila, žuti mozaik i deformiranost lista (*fanleaf*). Od navedenih simptoma u kolekcijskom nasadu *Višići*, najveću učestalost imao je žuti mozaik, dok simptom deformiranosti lista nije zabilježen na promatranim trsovima autohtonih kultivara. Čimbenici koji utječu na pojavu simptoma još su nepoznati. Martelli i Savino (1990) u svojoj studiji sugerirali su da bi sljedeći čimbenici mogli biti važni: soj virusa, genotip domaćina, pojava miješanih zaraza s različitim sojevima GFLV, utjecaj drugih virusa i uvjeti okoliša. Ta studija nije uključivala istraživanje sojeva ni jednog od detektiranih virusa, pa tako ni sojeve virusa GFLV, ali dobiveni rezultati zahtijevaju daljnja istraživanja i u smislu istraživanja simptomatologije, naročito kod zaraze vinove loze isključivo jednim virusom. Naime Liebenberg i sur. (2009) uočavaju pojačavanje simptoma na biljkama vinove loze koje su zaražene različitim izolatima istoga virusa, što je dovelo do zaključka da mnogostrukе infekcije s različitim sojevima GFLV mogu bitno modificirati simptome zaraze pojedinim virusom.

Već je istaknuto da jasan simptom *fanleaf* na listovima onih trsova u kojima je detektiran GFLV u kolekcijskom nasadu *Višići* nije uočen, ali je isti simptom zamijećen u drugim vinogradima u ovom istraživanju. Taj pripadnik roda *Nepovirus* iz porodice *Comoviridae* prenosi se ektoparazitskom nematodom *Xiphinema index*, kao i vegetativnim razmnožavanjem i cijepljenjem vinove loze. Osim simptoma na listu GFLV uzrokuje degeneracije i malformacije bobica, listova i mladica/rozgve. Taj je virus odgovoran za značajne ekonomske gubitke jer smanjuje urod vinograda za skoro 80 %, skraćuje dugovječnost vinograda i utječe na kvalitetu grožđa (Andret-Link i sur.; 2004; Martelli i Savino, 1990.; Raski i sur., 1983). Simptomi uočeni na autohtonim kultivarima u kolekcijskom nasadu *Višići* koji bi se mogli pripisati GFVL skraćeni su internodiji. U tom slučaju za pretpostaviti je da se radi o zarazi nekom od fitoplazmi vinove loze (BN ili '*Candidatus Phytoplasma asteris*') koje mogu uzrokovati vrlo slične simptome. U prilog navedenome idu i rezultati istraživanja Delić i sur. (2011) provedenih u vinogradima na području zapadne Hercegovine u kojima je utvrđena pojava fitoplazme '*Bois noir*'.

Nakon istraživanja 27 odabranih uzoraka koji su bili ELISA pozitivni na neki od virusa iz grupe GLRaV-4-9, metodom RT-PCR utvrđena je prisutnost GLRaV-5 kod šest uzoraka i GLRaV-9 kod sedam uzoraka. Ostali virusi iz grupe GLRaV-4-9 nisu registrirani. Razlozi takvih odstupanja mogu se tražiti u činjenici da su korišteni specifični prajmeri koji detektiraju određene sojeve virusa, pa je dovoljno i malo odstupanje uslijed genetske

varijabilnosti ili mutacije u sekvenciji virusnoga genoma, pa da korištene početnice ne reagiraju na istraživani virus dijagnosticiran prethodno ELISA metodama. U budućnosti će se RT-PCR metoda obaviti s početnicama iz drugih područja virusnoga genoma, za uzorke u kojima nije potvrđena prisutnost nekoga od GLRaV-4-9, prilikom čega će se završiti i njihovo sekvenciranje i filogenetska usporedba s izolatima susjednih zemalja (RH i Italija).

Trenutačno važeći propisi na području Bosne i Hercegovine teže usklađivanju s propisima Europske unije, i kao takvi trebali bi omogućavati proizvodnju dovoljnih količina sadnoga materijala vinove loze visoke kakvoće te razvoj i napredak rasadničarstva u Bosni i Hercegovini. Stoga Bosna i Hercegovina u skoroj budućnosti treba pokrenuti aktivnosti vezane za uspostavu mreže za certifikaciju vinove loze. Glavni je cilj uspostave mreže za certifikaciju kontrolirana proizvodnja loznoga sadnog materijala, putem podizanja matičnih nasada i proizvodnje reznica cjepova autohtonih kultivara temeljen na lokalnim certifikacijskim shemama. Slobodan protok robe između europskih zemalja i težnja za ujednačavanjem standarda temeljni su razlozi propisivanja jedinstvene certifikacijske sheme za proizvodnju sadnoga materijala na razini Europske unije. Za regionalne certifikacijske standarde (II klasa) preporuka je testiranje prilagoditi lokalnim uvjetima ovisno o stupnju endemskih infekcija, vinogradarskim uvjetima te potrebama vezanima uz očuvanje autohtone germplazme (Vončina, 2014.). Stoga bi u Bosni i Hercegovini trebalo provesti postojeće smjernice certificirana sadnog materijala kako bi se omogućila učinkovita kontrola i sprječavanje rasprostranjenja gospodarski važnih, ali i administrativno reguliranih („karantenskih“) biljnih parazita, u prvom redu virusa i fitoplazmi.

Međutim vinograde i dalje podižu lokalni proizvođači, a za proizvodnju sadnica koriste se materijali iz starih nasada i može se pretpostaviti da je, ovisno o odabiru materijala za proizvodnju cijepova, prisutna nedovoljna kontrola na viruse. Postojanje je pravih matičnih nasada pod kontrolom ovlaštenih institucija elementarna u certifikacijskim programima.

Ovaj rad može biti dobar uvod u sanitarnoj i klonskoj selekciji koja je ovim istraživanjem već započela, s obzirom na to da se pri uzorkovanju inzistiralo na prikupljanju asimptomatičnih uzoraka za testiranje na viruse, a koja bi rezultirala pokretanjem procesa certifikacije i proizvodnje *virus-tested* sadnoga materijala vinove loze autohtonih kultivara Bosne i Hercegovine.

Ovaj rad predstavlja važan doprinos poznavanju sanitarnoga statusa vinove loze u Hercegovini jer dosadašnja oskudna istraživanja nisu pružala tu mogućnost. Rezultat je ovoga rada nepristran sanitarni status autohtonih kultivara Herecegovine, koji sugerira provedbu

nacionalnoga programa certifikacije radi poboljšanja lokalne rasadničarske proizvodnje i zdravstvenoga stanja vinograda na tom području. Dobivanje matičnih biljaka slobodnih od virusa, može se ostvariti nekom od metoda sanitacije kao što su: primjena konvencionalne ili modificirane termoterapije (eng. *Theromotherapy*), mikrocijepljenjem ili primjenom metode kulture apikalnoga meristema u uvjetima *in vitro*, somatičnom embriogenezom (eng. *Somatic embryogenesis*), zamrzavanjem (eng. *Cryopreservaton*), kemoterapijom (eng. *Chemotherapy*) i elektroterapijom (eng. *Electrotherapy*) (Martelli 2014; Maliogka, i sur., 2015).

U nastavku istraživanja bilo bi uputno posvetiti veću pozornost promatranju trsova s jednostrukom zarazom kako bi se mogao proučiti utjecaj virusne zaraze na količinu i kvalitetu uroda i proizvoda od grožđa. Kako bi to bilo moguće u potpunosti provesti, potrebno je zasnovati matičnjak autohtonih kultivara *virus free* materijala čime bi se omogućila relevantna usporedba tipičnih simptoma. Također bi bilo uputno istražiti trsove s jednostrukim zarazama sa stajališta zelene mase odnosno količine lista, što opet utječe na kvalitetu i količinu uroda odnosno ishranjenosti trsa. Isto tako bi bilo uputno istražiti dugovječnost jednostrukih zaraženih trsova s trsovima slobodnim od istraživanih virusa.

Kako je postupak certifikacije sadnoga materijala složena, ali i zakonom definirana obveza, trsovi koji su u ovoj studiji bili *virus-tested* mogu biti predloženi kao materijal za podizanje matičnih nasada autohtonih kultivara.

Sve do sada provedene mjere idu u smjeru popularizacije autohtonoga sadnog materijala, kako bi se spriječila erozije autohtone germoplazme hercegovačkih vinogorja čime bi se očuvali genski resursi vinove loze.



## 6. ZAKLJUČCI

1. Pojavnost 9 virusa (ArMV, GFLV, GFkV, GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3, GLRaV-4-9, GVA i GVB) na 6 autohtonih hercegovačkih kultivara u 20 vinograda smještenih u 2 hercegovačka vinogorja ukazuju na prisutnost svih navedenih virusa osim virusa: GVA i GVB. Analiza rezultata seroloških analiza na 1.332 uzoraka pokazuje visoku učestalost zaraženih trsova 86,56 % i relativno visok broj pojedinačnih 40,99 % u usporedbi s višestrukim virusnim infekcijama. Virus s najvećim postotkom pojavnosti bio je virus GLRaV-3 iz roda *Ampelovirus*, a slijedi ga virus GFLV iz roda *Nepovirusi*, potom LR uzročnici iz roda *Ampelovirus* i to GLRaV-1 češće od GLRaV-4-9. Virus GLRaV-4-9 je na petom mjestu pojavnosti, odmah iza GFkV iz roda *Maculavirus*. Nasuprot tomu ArMV, još jedan član roda *Nepovirus* imao je manju učestalost, a GLRaV-2 član roda *Closterovirus* bio je rijedak, dok GVA i GVB iz roda *Vitivirus* nisu nađeni. Utvrđeno je vrlo loše zdravstveno stanje 6 autohtonih kultivara. Najlošiji sanitarni status kod istraživanih šest autohtonih kultivara utvrđen je kod kultivara Krkošija sa stopom infekcije 100 %. Slična situacija bila je kod dvaju kultivara sa stopom infekcije preko 90 %, i to kod kultivara Dobrogostina (94,01%) i Bena (93,37 %). Jednako loš sanitarni status imaju kultivari Žilavka i Blatina, koji imaju gotovo samo 13 % zdravih trsova (*virus-tested*). Dok je uvjetno prihvatljiv sanitarni status utvrđen kod kultivara Trnjak koji je imao skoro 30 % trsova čistih od svih ispitivanih virusa.
2. Za detektirane viruse koji još nisu bili potvrđeni na području Bosne i Hercegovine (GLRaV-2 i grupa virusa GLRaV-4-9) RT-PCR analiza uz primjenu specifičnih pari početnica je potvrdila prisutnost: **GLRaV-2** (GLR2CP1/GLR2CP2) kao i **GLRaV-5** (LR5/ LR5) i **GLRaV-9** (LR9-F V/LR9-R C), dok ista metoda nije potvrdila prisutnost: GLRaV-4 (LR4 HSP C/LR4 HSP V), GLRaV-6 (EST-1/EST-2) i GLRaV-7 (LR7 G23met L/LR7 G23) u uzorcima podvrgnutim testiranju.
3. Tijekom terenskih istraživanja promatrani su simptomi najvažnijih virusnih bolesti na autohtonim kultivarima vinove loze u hercegovačkom vinogorju. U skladu s rezultatima ovog istraživanja na vodećem mjestu po svojoj pojavnosti na autohtonim hercegovačkim kultivarima su: zastoj u rastu, zastoj u kretanju vegetacije, skraćeni internodiji, sveopća neujednačenost trsa (kao posljedica slabijega razvoja mladica),

- grozdovi smanjeni veličinom i brojni, neujednačeno odrvenjavanje, cik-cak rast, grozdovi neujednačeno dozrijevaju i klorotična diskoloracija.
4. Identificirano je 179 trsova (*virus-tested*), mogućih kandidata pogodnih za sanitarnu selekciju i slijedom toga certifikaciju prema EU protokolima. Ta studija donosi važan doprinos poznavanja sanitarnoga statusa vinove loze Bosne i Hercegovine, za koju postoje oskudne informacije. Najveći broj trsova *virus-tested* utvrđen je kod kultivara Trnjak (84), potom slijedi Blatina (45) i Žilavka (32); Bena (11) i Dobrogostina (7). Kultivar Krkošija nije imao nijedan trs slobodan od istraživanih virusa.
  5. S obzirom na vrlo visok intenzitet pojave virusnih zaraza u 6 autohtonih kultivara, za poboljšanje sanitarnoga statusa hercegovačkih vinograda bilo bi potrebno provesti sanitarni program i program certifikacije, s naglaskom na sprječavanje rasprostranjenja viroza. U tu svrhu neophodno je koristiti validne tehnike (serološke, molekularne i biološke) i oformiti dijagnostičke kapacitete za detekciju patogena u biljnom materijalu. Kako bi se spriječila erozija autohtone germplazme svih regija Mediterana potrebno je razvijati programe za očuvanje genetskih resursa vinove loze. Kako bi se poboljšala kvaliteta i kvantiteta uroda vinove loze, zemlje Mediteranske regije trebaju provoditi procese sanitacije svojih kultivara koristeći individualnu klonsku selekciju. Pristupanjem procesima zdravstvene selekcije, koje za krajnji cilj imaju podizanje matičnih nasada, prije svega autohtonih kultivara i njihovih najvažnijih podloga, osigurala bi se proizvodnja zdravoga sadnog materijala slobodnog od ekonomski važnijih virusa.

## 7. POPIS LITERATURE

- Abou Ghanem-Sabanadzovic, N., Sabanadzovic, S., Gugerli, P., Rowhani, A. (2012). Genome organization, serology and phylogeny of *Grapevine leafroll-associated viruses* 4 and 6: Taxonomic implications. *Virus Research* 163: 120–128.
- Abou Ghanem-Sabanadzovic, N., Sabanadzovic, S., Castellano, M. A., Boscia, D., Martelli, G. P. (2000). Properties of a new isolate of *Grapevine leafroll-associated virus* 2, *Vitis* 39: 119–121.
- Akbas, B., Kunter, B., Ilhan, D. (2007). Occurrence and distribution of *Grapevine leafroll-associated viruses* 1, 2, 3, i 7 in Turey, *Journal of Phytopathology*, 155: 122–124.
- Al Rawhanih, M., Dave, A., Anderson, M. i sur. (2013). Association of a DNA virus with grapevines affected by *Red blotch disease* in California, *Phytopathology* 103: 1069-1076.
- Al Rwahnih, M., Dolja, V., Daubert, S., Koonin, E., Rowhani, A. (2012). Genomic and biological analysis of *Grapevine leafroll-associated virus* 7 reveals a possible new genus within the family *Closteroviridae*, *Virus Research* 163: 302–309.
- Alkowni, R., Zhang, Y.-P., Rowhani, A., Uyemoto, J. K., Minafra, A. (2011). Biological, molecular, and serological studies of a novel strain of *Grapevine leafroll-associated virus* 2, *Virus Genes* 43:102–110.
- Alkowni, R., Rowhani, A., Daubert, S., Golino, D. (2004). Partial characterization of a new ampelovirus associated with *Grapevine leafroll disease*, *Journal of Plant Pathology* 86 (2): 123–133.
- Alkowni, R., Rowhani, A. (2003). Molecular characterization of *Grapevine leafroll-associated virus* 9, a new *Closterovirus* associated with *Grapevine leafroll disease complex*. V: 14th Meeting of the International Council for the Study of Viruses and Virus-like Diseases of Grapevine (ICVG), 12-17 September 2003, Locorotondo, Italy: Extended abstracts. Bari, University of Bari: 33–33.
- Andret-Link, P., Laporte, C., Valat, L., Ritzenthaler, C., Demangeat, G., Vigne, E., Laval, V., Pfeiffer, P., Stussi-Graud, C., Fuchs, M. (2004). Invited review: *Grapevine fanleaf virus*: still a major threat to the grapevine industry, *Journal of Plant Pathology* 86: 183–195.

- Atallah, S.S., Gomez, M.I., Fuchs, M.F., Martinson, T.E. (2012). Economic Impact of *Grapevine Leafroll Disease* on *Vitis vinifera* cv Cabernet Franc in Finger Lakes Vineyards of New York, *American Journal of Enology and Viticulture* 63(1): 73–79.
- Avramov, L., Cindrić, P., Kovač, V., (1987). Značaj oplemenjivanja vinove loze za unapređenje vinogradarstva. Rezime rada s I jugoslovenskog simpozija o klonskoj selekciji i međuvrсноj hibridizaciji vinove loze, 18-20. Mart, Vrnjačka Banja, 6–12.
- Belli, G., Fortusini, A., Casati, P., Belli, L., Bianco, P. A., Prati, S. (1994). Transmission of a grapevine leafroll associated closterovirus by the scale insect *Pulvinaria vitis* L., *Riv. Patol. Veg.* 4: 105–108.
- Beljo, J., Mandić, A., Jovanović- Cvetković, T., Dodig, R., Gašpar, M., Ivanković, M., Jakirović, ef. J., Lasić, V., Leko, M., Nikić, A., Prusina, T., Sivrić, M. (2014). Atlas vinogradarstva i vinarstva Bosne i Hercegovine FRAM ZIRAL, Mostar.
- Besse, S., Bitterlin W., Gugerli P. (2009). Development o fan ELISA for the simultaneous detection og *Grapevine leafroll-associated virus* 4, 5, 6, 7 and 9, Extended abstracts 16th Meeting ICVG: 296–298.
- Bercks, R., Stellmach G. (1966). Nachweis verschiedener Viren in reisirgkranken Reben, *Phytopathologische Zeitschrift* 56: 288–296.
- Bonavia, M., Digiario, M., Boscia, D., Boari, A., Bottalico, G., Savino, V., Martelli, G. P. (1996). Studies on „*corky rugose wood*“ of grapevine and on diagnosis of *Grapevine virus B*, *Vitis* 35: 53–58.
- Boscia, D., Masannat, K.M., Abu-Zurayk, A.R., Martelli, G.P. (1995). Rugose wood of the grapevine in Jordan, *Phytopathologia Mediterranea* 34 (2): 126–128.
- Boscia, D., Greit, C., Gugerli, P., Martelli, G.P., Walter, B., Gousalves, D. (1995a). Nomenclature of *Grapevine leafroll – associated* putative *Closteroviruses*, *Vitis* 34 (3): 171–175.
- Boscia, D., Elicio, V., Savino, V., Martelli, G.P. (1995b). Producton of monoclonal antibodies to grapevine fleck virus, *Plant pathology* 144: 160–163.

- ° Boscia, D., Savino, V., Minafra, A., Namba, S., Elicio, V., Castellano, M. A., Gonsalves, D., Martelli, G. P. (1993). Properties of filamentous virus isolated from grapevine affected by corky bark, *Archives of Virology* 130: 109–120.
- ° Boscia, D., Aslouj, E., Elicio, V., Savino, V., Castellano, M.A., Martelli, G.P. (1992). Production, characterization and use of monoclonal antibodies to *Grapevine virus A*, *Archives of Virology*, 127 (1-4): 185–194.
- ° Boscia, D., Martelli, G.P., Savion, V., Castellano, M.A. (1991). Identification of the agent of *Grapevine flack disease*, *Vitis* 30: 97–105.
- ° Bouyahia, H., Materazzi, A., Triolo, E. (2006). Grapevine Vein Necrosis: Further Data on Etiology and Diagnosis. Environment Identities and Mediterranean Area, 2006. ISEIMA '06. First international Symposium on: 629–631.
- ° Bovey, R., Martelli, G.P. (1986). The viroses and virus-like diseases of the grapevine. A bibliographic report, 1979-1984, *Vitis* 25: 227–275.
- ° Bovey, R., Gartel, W., Hewitt, W.B., Martelli, G.P., Vuittenez, A. (1980). Virus and virus-like diseases of grapevines. Colour atlas of symptoms. *Maladies a virus et affections similaires de la vigne. Atlas en couleurs des symptomes*. Editions Payot. Lausanne Switzerland: 183.
- ° Bulić, S. (1949). Dalmatinska ampelografija. Poljoprivredni nakladni zavod, Zagreb
- ° Buturović, D., Klindić, O. (1977). Prilog proučavanju viroza i štetnih nematode u vinogradima Hercegovine. Savjetovanje o eskoriozi i virusnim bolestima vinove loze, Istraživačko – razvojni centar HEPOK, Mostar: 177–180.
- ° Cabaleiro, C., Segura, A. (2006). Temporal analysis of *Grapevine leafroll-associated virus 3* epidemics, *European Journal of Plant Pathology* 114: 441–446.
- ° Cabaleiro, C., Segura, A. (1997). Some characteristics of the transmission of *Grapevine leafroll associated virus 3* by *Planococcus citri* Risso, *European Journal of Plant Pathology*, 103(4):373–378.
- ° Castellano, M.A., Abou-Ghanmen, N., Choueiri, E., Martelli, G.P. (2000). Ultrastructure of *Grapevine leafroll-associated virus 2* and *7* infections, *Journal of Plant Pathology* 82:9–15.

- Carstens, E. B. (2010). Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2009). *Virology Division News. Arch Virol* 155:133–146.
- Choueiri, E., Boscia, D., Digiario, M., Castellano, M.A., Martelli, G.P. (1996). Some properties of a hitherto undescribed filamentous virus of the grapevine, *Vitis* 35: 91–93.
- Choueiri, E., Abou-Ghanem, N., Boscia, D. (1997). *Grapevine virus A* and *Grapevine virus D* are serologically distantly related, *Vitis*, 36 (1):39–41.
- Ciglar, I. (1998). *Integrirana zaštita voćaka i vinograda*, Zrinski, Čakovec
- Clark, M. F., Adams, A.N. (1977). Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immuno sorbent assay for the detection of plant viruses, *Journal of General Virology* 34: 475–483.
- Conti, M., Milne, R.G., Luisoni, E., Boccardo, G. (1980). A Closterovirus from stem-pitting – diseased grapevine, *Phytopathology* 70: 394–399.
- Copeland, R. (1998). Assaying levels of plant virus by ELISA. In: *Plant Virology Protocols: From Virus Isolation to Transgenic Resistance* (Foster G.D., Taylor S.C. eds.). Humana Press Inc, Totowa.
- Cornell University <http://www.cornell.edu>; *Photo by* Marc Fuchs. Pristupljeno 4.2.2015.
- Credi R., Giunchedi L. (1996). *Grapevine leafroll-associated viruses* and *Grapevine virus A* in selected *Vitis vinifera* cultivars in northern Italy, *Plant Pathology* 45: 1110–1116.
- Cvjetković, B. (2010). *Mikoze i pseudomikoze voćaka i vinove loze*, Zrinski d.d., Čakovec
- Delić D., Đurić Z., Jović J., Lolić B., Toševski I., Karačić A. (2013). “*Bois noir*” phytoplasma and Auchenorrhyncha species in Bosnia and Herzegovina vineyards. II International symposium and XVIII scientific conference of agronomists of republic of srpska – Drugi međunarodni simpozijum i 18-to naučno-stručno savjetovanje agronoma Republike Srpske.
- Delić D., Lolić B., Karačić A. (2011). Screening for phytoplasma presence in West Herzegovina vineyards. *Indian Journals, Phytopathogenic Mollicutes* 1(2): 87–90.

- ° Delić D., Jovanović-Cvetković T., Đurić G. (2007). Prisustvo i rasprostranjenost *Grapevine Leafroll-associated Virus – 1 i 3* u Bosni i Hercegovini, Pestic. Fitomed. (Beograd) 22: 45–50.
- ° Descriptions of Plant Viruses (DPV)  
<http://www.dpvweb.net/dpv/showfig.php?dpvno=383&figno=06> i [i &figno=11](http://www.dpvweb.net/dpv/showfig.php?dpvno=383&figno=11)) Pristupljeno: 4.2.2015.
- ° Digiario, M., Elbeaino, T., Martelli, G.P. (2007). Development of degenerate and species-specific primers for the differential and simultaneous RT-PCR detection of grapevine-infecting nepoviruses of subgroups A, B and C, *Journal of Virological Methods* 141(1): 34–40.
- ° Digiario, M., Abou Ghanem-Sabanadzovic, N., Cigsar, I., Gokalp, K., De Stradis, A., Boscia, D., Martelli, G.P. (2003). Two hitherto undescribed *Nepoviruses* from Turkish grapevines, In: *Extended Abstracts 14th ICVG Meeting*, Locorotondo, Italy: 14–15.
- ° Digiario M., Martelli G. P., Savino V. (2000). Phloem-limited viruses of the grapevine in the Mediterranean and Near East. *Proceedings 13<sup>th</sup> Meeting of ICVG*, Adelaide: 75–76.
- ° Digiario M., Martelli G. P., Savino V. (1999). Phloem-limited viruses of the grapevine in the Mediterranean and Near East: a synopsis. *Options Mediterraneennes*, (B/n 29): 83–92.
- ° Digiario, M., Boscia, D., Simeone, V., Savino, V. (1998). Gravi casi di accartocciamento fogliare su cultivar ad uva da tavola di recente introduzione in Puglia, *Informatore Fitopatologico* 48(1-2):76–79.
- ° Digiario, M., Boscia, D., Simeone, V., Savino, V. (1997). Detrimental effects of filamentous viruses to table grape varieties newly introduced in Southern Italy. *Extended Abstracts 12th Meeting ICVG*, Lisbon, Portugal: 169–170.
- ° Dimitrijević, B. (1973). Some observation on natural spread of *Grapevine leafroll disease* in Yugoslavia, *Rivista di Patologia Vegetale (IV)*: 9.
- ° Dovas, C.I., Katis, N.I. (2003). A spot nested RT-PCR method for the simultaneous detection of members of the *Vitivirus* and *Foveavirus* genera in grapevine, *J. Virol. Meth.* 107: 99–106.
- ° Engelbrecht, D. J., Kasdorf, G. G. F. (1990). Field spread of corky bark, fleck, leafroll and Shiraz decline diseases and associated viruses in South African grapevines,

Phytophylactica 22: 347–354.

° EPPO/OEPP (2008). Pathogen-tested material of grapevine varieties and rootstocks. Certification scheme PM 4/8 (2), Schemes for the production of healthy plants for planting. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 38: 422–429.

° European Union Law – <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:164:0037:01:EN:HTML>; Pristupljeno 2.2.2015.

° Fabre, E., (1853). Observations sur les maladies régnantes de la vigne, Bull. Soc. Centrale Agr. Hérault. 40: 11–75.

° Faggioli, F., Anaclerio, F., Angelini, E., Antonelli, M.G., Bertazzon, N., Bianchi, G., Bianchedi, P., Bianco, P.A., Botti, S., Bragagna, P., Cardoni, M., Casati, P., Credi R., E. De Luca, Durante, G., Gianinazzi, C., Gambino, G., Gualandri, V., Luison, D., Luvisi, A., Malossini, U., Mannini, F., Saldarelli, P., Terlizzi, F., Triolo, E., Trisciuzzi, N., Barba, M. (2012). Validation of Diagnostic Protocols for the Detection of Grapevine Viruses Covered by Phytosanitary Rules, Proceedings of the 17th Congress of ICVG, Davis, California, USA: 260–261.

° Faggioli, F., Pasquini, G., Riccioni, L., Barba, M., (1991). Further characterization and serology of grape leafroll associated virus III isolated from grape in Italy, Proceedings 10th Meeting of ICVG, Volos 1990: 473–476.

° Faoro, F. (1997). Cytopathology of closteroviruses and trichoviruses infecting grapevines. In: Monette PL, ed. Filamentous Viruses of Woody Plants. Research Signpost, Trivandrum : 29–47.

° Faoro, F., Carzaniga, R. (1995). Cytochemistry and immunocytochemistry of the inclusion bodies induced by grapevine leafroll-associated closteroviruses GLRaV-1 and GLRaV-3, Rivista di Patologia Vegetale 5(3): 85–94.

° Faoro, F., Tornaghi, R., Belli, G. (1991). Localization of closteroviruses on grapevine thin sections and their identification by immunogold labelling. Journal of Phytopathology, 133(4): 297–306

° Fazeli, C.F., Rezaian, M.A. (2000). Nucleotide sequence and organization of ten open reading frames in the genome of *Grapevine leafroll-associated virus 1* and identification of three subgenomic RNAs, Journal of General Virology 81(3): 605–615.



- ° Festić, H., Šutić, D. (1977). Pojava nekih viroza na vinovoj lozi u Hercegovini. Savjetovanje o eskoriozi i virusnim bolestima vinove loze, Istraživačko – razvojni centar HEPOK, Mostar: 125–130.
- ° Fortusini, A., Scattini, G., Prati, S., Cinquanta, S., Belli, G. (1997). Transmission of *Grapevine leafroll-associated virus 1* (GLRaV-1) and *Grapevine virus A* (GVA) by scale insects. *Extended abstracts 11th Meeting of ICGV, Lisbon*:121–122.
- ° Fortusini, A., Scattini, G., Cinquanta, S., Prati, S. (1996). Diffusione naturale del virus 1(GLRaV-1) e del virus 3 (GLRaV-3) dell'accartocciamento fogliare e del virus dellamaculatura infettiva o „fleck“ (GFkV) della vite, *Informatore Fitopatologico* 46: 39–43.
- ° Fauquet, C.M., Mayo, M.A., Maniloff, J., Desselberger, U., Ball, L.A. (2005). Virus taxonomy. Classification and nomenclature of viruses. Eight report of the International Committee on the taxonomy of Viruses. Amsterdam, Elsevier Academic Press: 1259.
- ° Garau, R., Fiori, P.P., Prota, V., Tolu, G., Fiori, M., Prota, U. (1997). Effect of virus infection on own-rooted clones of different wine grape cultivars from Sardinia. *Extended Abstracts of the 12th Meeting of ICVG, Lisbon, Portugal*: 171–172.
- ° Garau R., Prota V. A., Piredda R., Boscia D., Prota U. (1994). On the possible relationship between Kober stem grooving and Grapevine virus A, *Vitis* 33: 161–163.
- ° Giampetruzzi, A., Roumi, V., Roberto, R., Malossini, U., Yoshikawa, N., La Notte, P., Terlizzi, F., Credi, R., Saldarelli, P. (2012). A new grapevine virus discovered by deep sequencing of virus- and viroid-derived small RNAs in cv *Pinot gris*., *Virus Research* 163: 262–268. [<http://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2011.10.010>]
- ° Giovanna, L., Davide, L., Saverio, B. G., Giuliana, A., Francesco, F. (2015). Grapevine Viruses' Detection and Sanitary Selection in Grapevine Germplasm of Calabria (Southern Italy), *Journal of Phytopathology* 163( 7-8): 690–693.
- ° Goheen, A.C., Harmon, F.N., Weinberger, J.H. (1958). Leafroll (White Emperor disease) of grapes in California, *Phytopathology* 48, 51–54.
- ° Golino, D.A., Sim, S., Rowhani, A. (2000). Identification of the latent viruses associated with young vine decline in California. *Extended Abstracts 13th Meeting of ICVG, Adelaide*: 85–86.

- Golino, D. A., Sim, S. T., Rowhani, A. (1995). Transmission studies of grapevine leafroll associated virus and grapevine corky bark associated virus by the obscure mealybug, *American Journal of Enology and Viticulture* 46: 408.
- Goszczynski, D. E., Du Preez, J., Burger, J. T. (2009). Molecular divergence of grapevine virus A (GVA) variants associated with Shiraz disease in South Africa, *Virus Research* 138: 105–110.
- Goszczynski, D. E. (2007). Single-strand conformation polymorphism (SSCP), cloning and sequencing reveal a close association between related molecular variants of grapevine virus A (GVA) and Shiraz disease in South Africa, *Plant Pathology* 56: 755–762.
- Goszczynski, D.E., Jooste, A.E.C. (2003). Identification of grapevine infected with divergent variants of Grapevine virus A using variant-specific RT-PCR. Extended Abstracts of the 14th Meeting of ICVG, Locorotondo, Italy: 131–132.
- Goszczynski, D.E., Kasdorf, G.F., Pietersen, G. (1996). Western blot reveal that grapevine virus A and grapevine virus B are serologically related, *Journal of Phytopathology* 144: 581–583.
- Greif C., Garau R., Boscia D., Prota V.A., Fiori M., Bass P., Walter B., Prota U. (1995). The relationship of grapevine leafroll-associated virus 2 with a graft incompatibility condition of grapevines, *Phytopathologia Mediterranea* 34: 167–173.
- Gugerli, P., Ramel, M.E. (1993). Grapevine leafroll associated virus II analyzed by monoclonal antibodies, Extended abstracts 11th Meeting ICVG: 23–24.
- Gugerli, P., Rosciglione, B., Brugger, J.J., Bonnard, S., Ramel, M.E., Tremea, F. (1991). Further characterization of grapevine leafroll disease, *Proceedings 10th Meeting of ICVG, Volos 1990*, 59–60.
- Gugerli, P. (1986). In H.U. Bergmeyer: *Methods of Enz. Analysis XI*: 474–481.
- Gugerli, P., Brugger, J.J., Bovey, R. (1984). L'enroulement de la vigne: mise en évidence de particules virales et développement d'une méthode immunoenzymatique pour le diagnostic rapide. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture* 16: 299–304.
- Garau, R., Prota, V.A., Piredda, R., Boscia, D., Prota, U. (1994). On the possible relationship between kober stem grooving and grapevine virus A, *Vitis* 33: 161–163.

- Harrison, B. D., Winslow, D. (1961). Laboratory and field studies on the relation of arabis mosaic virus to its nematode vector *Xiphinema diversicaudatum* (Micoletzky). *Annals of Applied Biology* 49(4): 621–633.
- Horvath, J., Tobias, I., Hunyadi, K. (1994). New natural herbaceous hosts of grapevine fanleaf nepovirus, *Horticultural Science* 26: 31–32
- Hewitt, W. B. (1970). Virus and virus-like diseases of the grapevine. In: *Virus diseases of small fruits and grapevines* (Frazier N.W. ed.). University of California, Davis, Div. Agr. Sci.: 195–196.
- Hu, J.S., Gonsalves, D., Teliz, D. (1990). Characterization of Closterovirus- like particles associated with Grapevine leafroll disease, *J. Phytopathology* 128: 1–14.
- Ioannou, N., Hadjinicolis, A., Hadjinicoli, A. (1997). Epidemiology of the grapevine leafroll-mealybug complex in Cyprus. *Extended Abstracts 12th Meeting of ICVG, Lisbon*: 123-124.
- Izadpanah, K., Zaki-Aghl, M., Zhang, Y. P., Daubert, S. D., Rowhani, A. (2003). Bermuda grass as a potential reservoir host for Grapevine fanleaf virusm, *Plant Disease* 87: 1178–1182.
- ICTV. 2009. *Virus Taxonomx: 2009 Release*. International Committee on Taxonomy of Viruses <http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?version=2009>;
- International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine ICVG <http://web.pppmb.cals.cornell.edu/fuchs/icvg/archive.htm>; [icvg 2012 proceedings.pdf](#)
- James, D., Varga, A., Pallas, V., Candresse, T. (2006). Strategies for simultaneous detection of multiple plant viruses, *Can. J. Plant Pathol.* 28: 16–29.
- Johnson, R. C. (2003). Grapevine certification and the importation of grapevines into the member countries of the North American Plant Protection Organization (NAPPO). *Proceedings of the 14th ICVG Conference, Locorotondo*.
- Jooste, A.E.C, Molenaar, N., Maree, H.J., Baster, R., Morey, L., De Koker, W.C., Burger, J.T. (2015). Identificatin and distribution of multiple virus infections in Grapevine leafroll diseased vineyards, *Eur.J.Plant Pathol.* 142: 363–375.
- Karoglan Kontić, J., Pejić, I., Maletić, E., Sladonja, B., Poljuha, D., Vokurka, A., Zdunić, G.,Preiner, D., Šimon, S., Ruehl, E. (2009a). *Virus Diseases Screening in Clonal Selectionof*

Croatian Grapevine Cultivars, 9th International Conference on Grape Genetics and Breeding, Udine, Italy, Acta Horticulturae 827: 623–626.

° Karoglan Kontić, J., Preiner, D., Šimon, S., Zdunić, G., Poljuha, D., Maletić, E. (2009b). Sanitary status of Croatian native grapevine varieties, Agriculturae Conspectus Scientificus 74: 99–103.

° Karoglan Kontić, J., Pejić, I., Maletić, E., Sladonja, B., Poljuha, D., Vokurka, A., Zdunić, G., Preiner, D., Šimon, S., Ruehl, E. (2008). Virus diseases screening in clonal selection of Croatian grapevine cultivars, Acta Horticulturae. 827: 623–626.

° Kominek P., Holleínova V. (2003). Evaluation of sanitary status of grapevines in the Czech Republic, Plant Soil Environ. 49 (2): 63–66.

° Krake, L.R. (1993). Characterization of grapevine leafroll disease by symptomatology, Australian i New Zealand Wine Industry Journal 8(1): 40–44.

° Krüger K., Douglas N. (2013). *Grapevine leafroll-associated virus 3 (GLRaV-3)* transmission by three soft scale insect species (Hemiptera: *Coccidae*) with notes on their biology, Afr. Entomol. 21: 1–8.

° Kurstak, E. (1981). Handbook of plant virus infections comparative diagnosis. Amsterdam, New York, Oxford, Elsevier: 943.

° Lasić, V., Karačić, A., Mandić, A. (2015). Ampelografski profil sorte Blatina (*Vitis vinifera* L.), Zbornik radova; Međunarodni znanstveni simpozij BLIDINJE 2015., FRAM Ziral, Mostar 541–559

° Lasić, V. (2014). Sadašnje stanje vinogradarstva u Federaciji, BiH; Atlas vinogradarstva i vinarstva Bosne i Hercegovine, FRAM ZIRAL, Mostar: 123–128

° Lasić, V., Karačić, A., Gašpar, M., Kojić, A., Blesić, M., Kraljević, M. (2010). Nazočnost virusa GFLV, ARMV, GLRAV-1 i GLRAV-3, na autohtonim kultivarima Žilavka i Blatina na lokalitetu Lopate u mostarskom vinogorju, 21st scientific-expert conference in agriculture and food industry, Neum:130–131.

° Leko, M., Žulj Mihaljević, M., Beljo, J., Šimon, S., Sabljo, A., Pejić, I. (2012). Genetic relationship among autochthonous grapevine cultivars in Bosnia and Herzegovina. 23rd

International Scientific – Congress on Agriculture and Food Industry, 27-29 Septembre 2012 Izmir/Turkey, The Journal of Ege University Faculty of Agriculture II: 479–482.

- ° Leko, M. (2011). Vinogradarski katastar F BiH. (in press).
- ° Leko, M., Kozina, B. (2009). Projekt izrade vinogradarskog katastra Bosne i Hercegovine. Stručni skup Vinofest , 29.-30. siječnja 2008., Položaj vinogradarstva i vinarstva u BiH. Zbornik radova, Turistička zajednica ŽZH Ljubuški: 97–113.
- ° Liebenberg, A., Freeborough, M.J., Visser, C.J., Bellstedt D.U., Burger J.T. (2009). Genetic variability within the coat protein gene of grapevine fanleaf virus isolates from South Africa and the evaluation of RT-PCR, DAS-ELISA and Immuno Strips as virus diagnostic assays, *Virus Research* 142 (1-2): 28–35
- ° López-Fabuel, I., Olmos, A., Bassler, A., Dupuis-Maguiraga, L., Torres, L.B., Bertolini, E., Wetzel, T. (2013). Short communication. Molecular analysis of the genomic RNAs 1 i 2 of the first Arabis mosaic virus isolate detected in Spanish grapevines. *Spanish Journal of Agricultural Research* 11(1): 199–203.
- ° Lima, M.F., Alkowni, R., Uyemoto, J.K., Golino, D., Osman, F., Rowhani, A. (2006). Molecular analysis of a California strain of Rupestris stem-pitting associated virus isolated from declining Syrah grapevines, *Archives of Virology* 151 (9): 1889–1894.
- ° Lunden, S., Meng, B., Avery, Jr. J., Qiu, W. (2008). *Grapevine fanleaf virus*, *Tomato ringspot virus* and *Grapevine rupestris stem-pitting associated virus* are present in Chardonnay with a severe vein-clearing disease, *Proceedings of the 2nd Annual National Viticulture Research Conference* 9: 11.
- ° Maceljiski, M. (1999). Poljoprivredna entomologija, Zrinski, Čakovec.
- ° Mahfoudhi, N., Digiario, M., Dhouibi, M. H. (2009). Transmission of grapevine leafroll viruses by *Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae) and *Ceroplastes rusci* (Hemiptera: Coccidae), *Plant Dis.* 93: 999–1002.
- ° Mahfoudhi, N., Digiario, M., Dhouibi, M. H. (2008). Incidence and distribution of grapevine leafroll-associated viruses in Tunisian vineyards, *Journal of Phytopathology*, 156: 556–558.
- ° Maixner, M. (2005). Risks posed by the spread and dissemination of grapevine pathogens and their vectors. *International symposium Introduction and Spread of Invasive Species*, 9 11

June, Berlin, Germany

[http://p11631.typo3server.info/fileadmin/alte\\_Webseiten/Invasive\\_Symposium/articles/062\\_Maixner.pdf](http://p11631.typo3server.info/fileadmin/alte_Webseiten/Invasive_Symposium/articles/062_Maixner.pdf)

- ° Maliogka, V.A., Martelli, G.P., Fuchs, M., Katis, N.I. (2015). Control of viruses infecting grapevines, *Advances in Virus Research* 91:175–227.
- ° Maliogka, V.I., Dovas, C.I., Katis, N.I. (2008). Evolutionary relationships of virus species belonging to a distinct lineage within the *Ampelovirus* genus, *Virus Research* 135: 125–135.
- ° Malossini, U., Roncador, I., Ciccotti, A.M., Bertamini, M., Nedunchezian, N. (2003). Grapevine viruses (GLRaV-1 + GVA) inhibit pigments, RuBPC and photosynthetic activities in field grown grapevine (*Vitis vinifera* L, cv. Marzemino) leaves. Extended Abstracts of the 14th Meeting of ICVG, Locorotondo, Italy, 2003: 254–255.
- ° Mandić, B., Ivanović, Ž., Susca, L., Bottalico, G., Starović, M., Jakšić, D., Kuzmanović, S., Ivanišević, D., Gavrilović, V., Korać, N., Digiario, M., La Notte P. (2009). Clonal selection and sanitary status of local grapevine germplasm in Serbia. Extended abstracts 16th Meeting of ICVG, Dijon, France, 60–61.
- ° Maree, H. J., Almeida, R. P. P., Bester, R., Mun Chooi, K., Cohen, D., Dolja, V. V., Fuchs, M. F., Golino, D. A., Jooste, A. E. C., Martelli, G. P., Naidu, R. A., Rowhani, A., Saldarelli P., Burger J. T. (2013). *Grapevine leafroll-associated virus 3*, *Frontiers in microbiology* 4(82): 1–21.
- ° Martelli, G.P. (2014). Directory of virus and virus-like diseases of the grapevine and their agents, *Journal of Plant Pathology* 96: 1-136.
- ° Martelli, G.P., Abou Ghanem-Sabanadzovic, N., Agranovsky, A.A., Al Rwahnih, M., Dolja, V.V., Dovas, C.I., Fuchs, M., Gugerli, P., Hu J.S., Jelkmann, W., Katis, N.I., Maliogka, V.I., Melzer, M.J., Menzel, W., Minafra, A., Rott, M.E., Rowhani, A., Sabanadzovic, S., Saldarelli, P. (2012). Taxonomic Revision Of The Family *Closteroviridae* With Special Reference To The Grapevine Leafroll-Associated Members Of The Genus *Ampelovirus* And The Putative Species Unassigned To The Family, *Journal of Plant Pathology* 94:7–19.
- ° Martelli, G.P., Agranovsky, A.A., Bar-Joseph, M., Boscia, D., Candresse, T., Coutts, R.H.A., Dolja, V.V., Hu, J.S., Jelkmann, W., Karasev, A.V., Martin, R.R., Minafra, A., Namba, S.,

Vetten, H.J. (2011). Family *Closteroviridae*. In: King A., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E. (eds). *Virus Taxonomy. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, Elsevier-Academic Press, Amsterdam, The Netherlands: 987–1001.

◦ Martelli, G.P. (2010). *Virus Diseases of Grapevine*. eLS. A21522

◦ Martelli, G.P. (2009). *Grapevine virology highlights 2006-09*. V: 16th Meeting of the International Council for the Study of Viruses and Virus-like Diseases of Grapevine (ICVG), 31 August-4 September, 2009, Dijon, France: Extended abstracts. *Le Progres Agricole et Viticole*, 126: 15–23

◦ Martelli, G.P., Boudon-Padiou, E. (2006). Directory of infectious diseases of grapevines. *Options Méditerranéennes B* (55): 11–201.

◦ Martelli, G.P., Arganovsky, A.A., Bar-Joseph, M., Boscia, D., Candresse, T., Coutts, R.H.A., Dolja, V.V., Falk, B.W., Gonsalves, D., Jelkmann, W., Karasev, A.V., Minafra, A., Namba, S., Vetten, H.J., Wisler, G.C., Yoshikawa, N. (2002). The family *Closteroviridae* revised. *Archives of Virology* 147 (10): 2039–2044.

◦ Martelli, G. P. (1999). Proceedings of the Mediterranean network on grapevine closteroviruses 1992-1997 and the viroses and virus-like diseases of the grapevine a bibliographic report, 1985-1997. (Martelli G. P., Digiaro M. eds.). *Options Méditerranéennes, Etudes et Recherches*. Ciheam, Bari.

◦ Martelli, G.P., Saldarelli, P., Boscia, D. (1997). Filamentous viruses of the grapevine: *Closterovirus*. In: Monette PL, ed. *Filamentous Viruses of Woody Plants*. Research Signpost, Trivandrum: 1–9.

◦ Martelli, G.P., Minafra, A., Saldarelli, P. (1997a). *Vitivirus*, a new genus of plant viruses. *Archives of Virology* 142, 9

◦ Martelli, G.P. (1993). *Graft-transmissible Diseases of Grapevines. Handbook for Detection and Diagnosis*. Rome, Italy: Food and Agricultural Organization of the United Nations Publication Division.

◦ Martelli, G.P., Taylor, C.E. (1990). Distribution of viruses and their nematode vectors. *Adv. Dis. Vector Res.* 6: 151–189.

- Martelli, G.P., Savino, V., (1990). Fanleaf degeneration. In: Pearson, R.C., Gogheen, A. (Eds.), Compendium of Grapevine Diseases. APS Press, St. Paul, MN, USA:48-49.
- Mslmanieh, T., Digiario, M., Elbeaino, T., Boscia, D., Martelli, G.P. (2006). Viruses of grapevine in Syria, EPPO Bulletin 36 (3): 523–528.
- Masten, Milek, T., Masten, R. (2009). *Eriofidne i Tetranihidne grinje* (Arachnida: *Acari*) na vinovoj lozi, Glasilo biljne zaštite 9/5: 343–351.
- Materazzi, A., D'Onofrio, C., Bouyahia, H., Triolo, E. (2009). Sanitary status of autochton minor wine grape varieties: an unusual diffusion of *Arabis mosaic virus*. Extended abstracts 16th Meeting of ICVG, Dijon, France, 127–128.
- Meng, B., Pang, S., Forsline, P.L., McFerson, R., Gonsalves, D. (1998). Nucleotide squence of Grapevine Rupestris stem pitting associated virus-1 reveal similarities to Apple stem pitting virus, Journal of General Virology, 79: 2059–2069.
- Milne, R.G., Conti, M., Lesemann, D.E., Stellmach, G., Tanne, E., Cohen, J. (1984). Closterovirus-like particles of two types associated with diseased grapevines, Phytopathol. Z. 110: 360–368.
- Ministarstvo vanjske trgovine i ekonomskih odnosa/ Uprava Bosne i Hercegovine za zaštitu zdravlja bilja <http://www.uzzb.gov.ba/>
- Mirošević, N., Turković, J. (2004). Ampelografski atlas, Golden marketing – Tehnička knjiga, Zagreb.
- Monette, P.L., Godkin, S.E. (1993). Mechanical transmission of closterovirus-like particles from a corky bark affected grapevine to herbaceous species, Plant Pathology, Trends in Agricultural Science 1: 7–12.
- Monette, P.L., James, D. (1990). Detection of two strains of grapevine virus A, Plant Disease 74(11): 898–900.
- Namba, S., Yamashita, S., Doi, Y., Yora, K., Terai, Y., Yano, R. (1979). Grapevine leafroll virus, a possibile member of closteroviruses, Annals of the Phytopathological Society of Japan 45: 497–502.



- Narayanasamy, P. (2008). Molecular biology in plant pathogenesis and disease management – Microbial plant pathogens. 1. Springer Science Business Media B.V., Netherlands.
- National Center for Biotechnology Information <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> i <http://frodo.wi.mit.edu/>; Pristupljeno 18. veljače 2015.
- Osman, F., Leutenegger, C., Golino, D. and Rowhani, A. (2007). Real-time RT-PCR (TaqMan®) assays for the detection of Grapevine Leafroll associated viruses 1-5 and 9, J. Virol. Methods 141, 22-29.
- Osman, F., Leutenegger, Ch., Golino, D., Rowhani, A. (2008). Comparison of low-density arrays, RT-PCR and real-time TaqMan® RT-PCR in detection of grapevine viruses, Journal of Virological Methods 149: 292–299.
- Ostojić, I., (2014). Pojava mediča vinove loze na području Hercegovine, Zbornik 59. Turističko-kulturno-gospodarstvene manifestacije „Dani berbe grožđa – Brotnjo 2014, Čitluk.
- Ostojić, I. (2013). Periodički štetnici vinove loze na području Hercegovine, Zbornik 58. Turističko-kulturno-gospodarstvene manifestacije „Dani berbe grožđa – Brotnjo 2013, Čitluk.
- Ostojić, I., Zovko, M. (2010). Štitaste uši-sve veći problem hercegovačkih vinograda, Zbornik 55. Turističko-kulturno-gospodarstvene manifestacije „Dani berbe grožđa – Brotnjo 2010, Čitluk.
- Ostojić, I., Zovko, M., Petrović, D., Bulić, P., Dogan, V. (2014a). Smokvin crvac (*Planococcus ficus*, Signoret, 1875) – opasan štetnik vinove loze na području Hercegovine, 11. Simpozij o zaštiti bilja u Bosni i Hercegovini, Teslić, 4.–6. studenoga 2014. godine, Zbornik, Sažetak: 38–40.
- Ouertani, R., Savino, V., Minafra, A., Boscia, D., Castellano, M.A., Martelli, G.P., Greco, N. (1991). A new mechanically transmissible virus from Tunisian grapevines. In: Proceedings of the 10th Meeting of ICVG, Volos, Greece, 1990: 129.
- Pastre, J. (1891). La brunissure de la vigne, Progrès Agricole et Viticole 12: 219–233.
- Panjan, M., Šarić, A. (1963). Serološka dijagnostika Arabis mozaik virusa iz vinove loze i trešnje gel-difuzionom metodom, Agronomski glasnik 3: 204–206.
- Pearson, R.C., Goheen, A.C. (1998). Compendium of grape diseases. 4th ed. St. Paul, The American Phytopathological Society Press: 93.
- Pejčinovski, F. (1974). Virozna rehljavost grozdova sorte Belo Zimsko u Makedoniji.- Doktorska disertacija, Beograd.

- ° Peršurić, Đ., Ponjuha, D., Sladonja, B. (2005). Zdravstveno stanje autohtonih sorata vinove loze u Istri, Glasilo biljne zaštite 1: 10–12.
- ° Peterson, C.L., Charles, J. (1997). Transmission of grapevine leafroll-associated closteroviruses by *Pseudococcus longispinus* and *P. calceolariae*, Plant Pathology 46: 509–515.
- ° Poljuha, D., Sladonja, B., Bubola, M. (2010). Incidence of viruses infecting grapevine varieties in Istria (Croatia). Journal of Food, Agriculture and Environment 8: 166–169.
- ° Poljuha, D., Sladonja, B., Peršurić, D. (2004). Survey of five indigenous Istrian Cultivars for presence of six grape viruses. American Journal of Enology and Viticulture 55: 286–287.
- ° Preiner, D., Cibilić, I., Karoglan Kontić, J., Marković, Z., Maletić, E. (2010). Utjecaj zarazivirusom uvijenosti lista tip 3 na ampelografske karakteristike sorte Grk (*V. vinifera*L.). 45. Hrvatski i 5. Menunarodni simpozij agronoma, Opatija, Hrvatska: 1188–1192.
- ° Primer3web version 4.0.0 – Pick primers from a DNA sequence. <http://primer3.ut.ee/> (<http://bioinfo.ut.ee/>); Pristupljeno 2. veljače 2015.
- ° Ramel, M.E., Serrant, P., Külling, P. Gugerli, P. (1993). Monoclonal and polyclonal antibodies for the detection of Grapevine fleck associated virus. Extended abstracts 11th Meeting ICVG: 161–162.
- ° Raski, D.J., Goheen, A.C., Lider, L.A., Meredith, C.P. (1983). Strategies against grapevine fanleaf virus and its nematode vector, Plant Dis. 67: 335–339.
- ° Ravaz, L., Verge, G.(1924). Le rugeau de la vigne, Progrès Agricole et Viticole 45: 11–17.
- ° Rigotti, S., Bitterlin, W., Gugerli, P. (2006). Production of monoclonal antibodies to grapevine leafroll associated virus 7 (GLRaV-7). In extended abstracts 15th Meeting ICVG: 200–202.
- ° Rosciglione, B., Gugerli, P. (1989). Transmission of grapevine leafroll disease and an associated closterovirus to healthy grapevine by the mealybug *Planococcus ficus* (Signoret). Proceedings 9th Meeting of ICVG, Kiryat Anavim, Israel 1987: 67–69.

- Rott, M.E., Jelkmann W. (2001). Characterization and detection of several filamentous viruses of cherry: Adaptation of an alternative cloning method (DOP-PCR) and modification of an RNA extraction protocol, *European Journal of Plant Pathology* 107: 411–420.
- Rowhani, A., Zhang, Y.P., Golino, D.A., Uyemoto, J.K. (2000). Isolation and partial characterization of two new viruses from grapevine. *Extended Abstracts 13th Meeting of ICVG, Adelaide 2000*: 82.
- Rowhani, A., Uyemoto, J. K., Golino, D. A., Martelli, G.P. (2005). Pathogen testing and certification of *Vitis* and *Prunus* species. *Annu. Rev. Phytopathol.* 43: 261–278.
- Sabanadzovic, S., Abou Ghanem, N., Castellano, M.A., Digiario, M., Martelli, G.P. (2000). Grapevine fleck-like viruses in *Vitis*, *Arch. Virol.* 145: 553–565.
- Sabanadzovic, S., Abou-Ghanem, N., Saldarelli, P., Martelli, G. P. (1997). Physico-chemical and molecular characterization of grapevine fleck virus, p. 25–26. In O. A. Sequeira, de J. C. Sequeira, M. T. Santos (ed.), *Extended abstracts 12th Meeting ICVG, Lisbon, Portugal, 29 september-2 October 1997*. Dept. Plant Pathology, Estacção Agronomica Nacional, Oeiras, Portugal.
- Sardarelli, P., Giampetruzzi, A., Minafra, A., Martelli, G. (2012). Grapevine virus diseases. Impact and advanced diagnosis of associated agents. Istituto di Virologia vegetale del CNR-UOS, Dipartimento Biologia e Chimica Agroforestale ed Ambientale. University of Bari, Italy.
- Saldarelli, P., Giampetruzzi, A. Minafra, A., Martelli, G. (2012<sup>o</sup>). Grapevine virus diseases: impact and advanced diagnosis of associated agents, COST Phytoplasma and Virus Management in Grapevine Collections for Germplasm Conservation, Mobilization and Evaluation, *Abstract book, Sofia*: 5–6
- Saldarelli, P., Rowhani, A., Routh, G., Minafra, A., Digiario, M. (1998). Use of degenerate primers in an RT-PCR assay for the identification and analysis of some filamentous viruses, with special reference to closteroviruses of the grapevine, *Eur. J. Plant Pathol.* 104: 945–950.
- Sanfançon, H., Wellink J., Le Gall O., Karasev A., Van der Vlugt R., Wetzel T. (2009). *Secoviridae*: a proposed family of plant viruses within the order Picornavirales that combines the families Sequiviridae and Comoviridae, the unassigned genera Cheravirus and Sadwavirus and the proposed genus *Torradovirus*: *Archives of Virology* 154 (5): 899–907.

- ° Sannino, F.A. (1906). Il rossore delle viti. Riv. Patol. Veg. 1, 162–163.
- ° Scheu, G. (1935). Die Rollkrankheit des Rebstockes, Der Deutsche Weinbau 14: 222–223, 345–346, 356–358.
- ° Savino, V., La Notte P., Bottalico G., Martelli G.P. (2002). Situazione sanitaria della vite in Italia centro-meridionale, Quaderni della Scuola di Specializzazione in Scienze Viticole ed Enologiche – Torino 25: 67–76.
- ° Savino, V., Boscia, D., Martelli, G.P. (1989). Rugose wood complex of grapevine: can grafting to *Vitis* indicators can discriminate between diseases. Proceedings 9th meeting ICVG, Kyriat Anavim, Israel 1987: 91–94.
- ° Sforza, R., Komar, V., Greif, C. (2000). New scale insect vectors of grapevine *Closteroviruses*. Extended Abstracts 13th Meeting of ICVG, Adelaide 2000, 14.
- ° Stellmach, G. (1968). Propfversuche zum Nachweis der Rollkrankheit im heimischen Weinbau. Weinb. U. Keller 15: 518–523.
- ° Šarić, A., Korošec-Koruza, Z. (1991). Occurrence and spread of viruses associated with leafroll (GLR) and stem pitting (GSP) diseases in north-western part of Yugoslavia. Proceedings 10th Meeting of ICVG, Volos, Greece, 416.
- ° Šarić, A., Hranueli, T. (1977). Istraživanje virusnih bolesti loze u SR Hrvatskoj. Proc. Symp. Ekskoriosis in vine, Mostar: 149–151.
- ° Šarić, A. (1960). Degeneracija loze u Istri. Biljna zaštita 1: 3–5.
- ° Šarić Sabadoš A., Corte A. (1959). Dati preliminari su una forma di „degenerazione infettiva” della vite in Istria a complesso sintomatologico insolito, Atti. Ist. Bot. Univ. Pavia, 5 (17): 268-273.
- ° Šutić, DD, Ford, R. E., Tošić, M. T. (1999). Handbook of Plant Virus Diseases. CRC Press, USA.
- ° Tanne, E., Ben Dov, Y., Raccah, B. (1989). Transmission of the corky-bark disease by the mealybug *Planococcus ficus*, Phytoparasitica 17, 55.
- ° Teliz, D., Tanne, E., Gonsalves, D., Zee, F. (1987). Field serological detection of viral antigens associated with grapevine leafroll disease, Plant Disease 71, 8
- ° Topolovec-Pintarić, S. (1990). Analize vinove loze na prisustvo virusa Elisa metodom u rasadniku Jastrebarsko (Mladina). Diplomski rad.

- ° Triolo, E., Materazzi, A. (1986). La Maculatura Infettiva della vite: influenza di isolati diversi sull'attitudine alla propagazione vegetativa di *Vitis rupestris* St George. In: IV Symp Int Sélection Clonale de la Vigne, Changins, 1986. Rech Agron Suisse 3 (26): 320–324.
- ° Tsai, C. W., Chau, J., Fernandez, L., Bosco, D., Daane, K. M., Almeida, R. P. P. (2008). Transmission of *Grapevine leafroll-associated virus 3* by the vine mealybug (*Planococcus ficus*), *Phytopathology* 98: 1093–1098.
- ° Turturo, C., Rott, M. E., Minafra, A., Saldarelli, P., Jelkmann, W., Martelli, G. P. (2000). Partial molecular characterization and RT-PCR detection of *Grapevine leafroll associated virus -7*. Extended abstracts 13th Meeting of ICVG, Adelaide, Australia: 17–18.
- ° Uyemoto, J.K., Martelli, G.P., Rowhani, A. (2009). Grapevine Viruses, Viruslike Diseases and Other Disorders. In: Virus Diseases of Plants: Grape, Potato, and Wheat Image Collection and Teaching Resource CD-Rom. APS Press, St. Paul, MN 55121.
- ° Vončina, D., Preiner, D., Radović, D., Maletić, E., Karoglan Kontić, J. (2012). Prevalence of viruses in autochthonous grapevine cultivars from Croatian continental and coastal grapevine cultivars from Croatian continental and coastal vine-growing regions. International Symposium on current trends in plant protection (Marisavljević D. ur.). Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade.
- ° Vončina, D. (2011). Utvrđivanje virusa na autohtonim sortama vinove loze (*Vitis vinifera* L.) u Dalmaciji serološkim, molekularnim i biološkim metodama, Doktorska disertacija, Agronomski fakultet Sveučilište u Zagrebu.
- ° Vončina, D., Zdunić, G., Mihaljević, M., Hančević, K., Budić-Leto, I., Cvjetković, B. (2011a). Prisutnost viroza u populaciji rijetke sorte „Dobričić“ (*Vitis vinifera* L.) u obalnom području Hrvatske, *Glasilo biljne zaštite* 11(5): 343–352.
- ° Vončina, D., Badurina, D., Preiner, D., Cvjetković, B., Maletić, E., Karoglan Kontić, J. (2011b). Incidence of virus infections in grapevines from Croatian collection plantations, *Phytopathol. Mediterr* 20: 316–326.
- ° Vončina, D., Šimon, S., Đermić, E., Cvjetković, B., Pejić, I., Maletić, E., Karoglan Kontić, J. (2010). Distribution and partial molecular characterization of Grapevine leafroll-associated virus 2 (GLRaV-2) found in Croatian autochthonous grapevine (*Vitis vinifera* L.) germplasm, *Journal of plant diseases and protection* 117 (2010) 5: 194–200.

- Vončina D., Đermić E., Cvjetković B., Maletić E., Pejić I., Karoglan Kontić J. (2009). Occurrence of the important grapevine viruses in population of Croatian autochthonous grapevine varieties from Kastela region. 32nd World Congress of vine and wine, 7th general assembly of the OIV and Wine. (Kubanović V. ed.). Zagreb.
- Vuksanović, P., Mijatović, D., Tarailo, R., Kovačina, R., Aničić, Z. (1977). Rejonizacija vinogradarstva Socijalističke Republike Bosne i Hercegovine, Elaborat, Poljoprivredni fakultet Sarajevo.
- Vetten, H.J., Wisler, C.G., Yoshikawa, N. (2002a). The family Closteroviridae revised. *Archives of Virology* 147: 2039–2043.
- Vuittenez, A. (1977). Metode borbe protiv viroza loze, Savjetovanje o eskoriozi i virusnim bolestima vinove loze, Istraživačko – razvojni centar HEPOK, Mostar: 177-18
- Zhang, Y., Singh, K., Kaur, R., Qiu, W. (2011). Association with a novel DNA virus with the grapevine vein-clearing and vine decline syndrome, *Phytopathology* 101:1081-1090.
- Zdunić, G., Šimon, S., Maletić, E., Vončina, D., Budić-Leto, I., Karoglan Kontić, J., Pejić, I. (2009). Conservation and valorization of genetic diversity within the population of cv. Plavac mali (*Vitis Vinifera* L.). Proceedings of the 16th International GiESCO Symposium, Davis, USA: 547–551.
- Zdunić, G., Hančević, K., Sladonja, B., Poljuha, D., Hartl-Musinov, D., Budić-Leto I., Bućan, L., Pezo, I. (2008). Ampelographic characterization and sanitary status of grapevine cultivar ‘ Prč bijeli’ (*Vitis vinifera* L.), *Agriculturae Conspectus Scientificus* 73: 85–88.
- Zdunić, G., Maletić, E., Vokurka, A., Karoglan Kontić, J., Pezo, I., Pejić, I. (2007). Phenotypical, Sanitary and Ampelometric Variability within the Population of cv. Plavac Mali (*Vitis vinifera* L.), *Agriculturae Conspectus Scientificus* 72: 117–128.
- Zee, F., Gonsalves, D., Goheen, A., Kim, K.S., Pool, R., Lee, R.F. (1987). Cytopathology of leafroll-diseased grapevines and the purification and serology of associated Closterovirus-like particles, *Pytopathology* 77: 1427–1434.
- Walter, B., Martelli, G. P. (1997). Clonal and sanitary selection of the grapevine. In: *Sanitary selection of the Grapevine* (Walter B. ed.). INRA, Paris.
- Walter, B., Zimmermann, D. (1991). Further characterization of closterovirus-like particles associated with the grapevine leafroll disease, *Proceedings 10th Meeting of ICVG*, Volos, Greece: 62–66.

- ° Weber, E., Golino, D., Rowhani, A. (1993). Leafroll diseases of grapevines, Pract. Winery Vineyard 13: 21–25.
- ° Wetzel, T., Jardak, R., Meunier, L., Ghorbel, A., Reustle, G.M., Krczal, G. (2002). Simultaneous RT/PCR detection and differentiation of arabis mosaic and grapevine fanleaf nepoviruses in grapevine with a single pair of primers, J. Virol. Meth. 101, 63–69.
- ° WSU Enology and Viticulture. <<http://cru.cahe.wsu.edu/CEPublicatios/FS074E/FS074E.pdf>> Pristupljeno 22. prosinca 2014.

## 8. PRILOZI

### Prilog 1. Postupak pripreme pozitivnih kontrola.

Pozitivne kontrole za viruse GLRaV-2, GLRaV-4, GLRaV-5, GLRaV-6, GLRaV-7 i GLRaV-9 dopremljene su kao etanol/natrij acetat precipitacija (talog), njihovo vraćanje u otopinu za upotrebu u RT-PCR obavljeno je po protokolu (Lori Leong, Laboratory Manager (Staff Research Associate), Foundation Plant Services UC Davis; osobna komunikacija):

1. centrifugirati 30 minuta na 10,000 rpm
2. pažljivo odliti supernatant
3. pažljivo pipetirati 0,5 ml hladnog 90 % etanola u epruvetu (bez uzimanja taloga)
4. centrifugirati 7 minuta na 10,000 rpm
5. pažljivo odliti supernatant
6. centrifugirati 1 minutu na 10,000 rpm
7. pažljivo pipetom odstraniti preostali etanol
8. prosušiti na zraku 5 minuta
9. resuspendirati talog u odgovarajućoj količini vode (20  $\mu$ L *Rnase free water*)



**Prilog 2. Vinogradi u kojima je vršeno istraživanje viroza.****Tablica 18.** Osnovne informacije o vinogradima u kojima je vršeno istraživanje

<b>Redni broj</b>	<b>Mjesto, lokalitet, položaj vinograda</b>	<b>Autohtoni kultivar</b>	<b>Količina</b>	<b>GPS koordinate</b>	<b>Općina</b>	<b>Napomena</b>
1.	lokalitet <b>Humac</b> položaj <b>Zgoni</b> (vl. Milas Hrvoje)	Krkošija	25	6462520 x 4783607 88 m	Ljubuški	oko 800 loza (Žilavka i prateći kultivari )
2.	lokalitet <b>Ljubuški</b> , položaj <b>Donji Radišići</b> <u>vinogradi i vinarija</u> (vl. Škegro)	Dobrogostina	33	6462602 x 4784942 127 m	Ljubuški	oko 5.000 (Blatina i Žilavka i prateći kultivari)
3.	lokalitet <b>Vitina</b> položaj <b>Proboj</b> (vl. Bandur Franjo)	Dobrogostina	17	6460118 x 4786925 87 m	Ljubuški	oko 300 loza (Kujundžuša, Smederevka, i prateći bijeli kultivari)
4.	lokalitet <b>Klobuk</b> , položaj <b>Čuljkove njive</b> (vl. Vegić)	Dobrogostina Krkošija	42 13	6455864 x 4793515 183 m	Ljubuški	oko 1.300 loza (svi kultivari)
5.	lokalitet <b>Ljubuški</b> , položaj <b>Plantaže – Otok</b> <u>vinogradi i vinarija</u> EROVIN d.o.o.	Blatina Trnjak	52 8	6462426 x 4784349 111 m	Ljubuški	15 ha
6.	lokalitet <b>Humac</b> položaj <b>Zgoni</b> (vl. Milas Zdenko)	Trnjak Bena	23 37	6462154 x 4783250 132 m	Ljubuški	oko 10.000 loze (svi kultivari)

nastavak Tablice 18.

7.	lokalitet <b>Humac</b> , položaj <b>Radišići</b> RASADNIK <u>vinogradi i vinarija</u>	Bena	29	6459547 x 4786685 99 m	Ljubuški	12 ha (Žilavka i prateći kultivari)
8.	lokalitet <b>Studenci-Kravice</b> , položaj <b>Doljani</b> <u>vinogradi i vinarija</u> Vinarija Catena d.o.o.	Krkošija	43	6467282 x 4780793 116 m	Ljubuški	6,3 ha (Žilavka, Bena, Krkošija, Blatina, Trnjak, A. Bouche, Merlot), zasađen 2007.
9.	lokalitet <b>Buna</b> , položaj <b>Stup</b> (vl. Obitelj Leko)	Blatina Žilavka	19 17	6487550 x 4790117 81 m	Mostar	oko 600 loza, zasađen 1954 godina (Žilavka i Blatina)
10.	lokalitet <b>Drinovci</b> , položaj <b>Drinovačka Draga</b> (vl. Vlado Rogić)	Trnjak	53	43°21.501' x 17°20.544'	Grude	oko 800 loza
11.	lokalitet <b>Tihaljina</b> , položaj <b>Nezdravice</b> (vl. Tomisla Kordić):	Trnjak	15	43°18.908' x 17°23.463'	Grude	oko 300 loza
12.	lokalitet <b>Stolac</b> , položaj <b>Poprati</b> (vl. Obitelj Perić)	Žilavka	29	6493071 x 4772671 118 m	Stolac	oko 500 loza (Žilavka, Blatina, Plavka)

nastavak Tablice 18.

13.	lokalitet <b>Crnopod</b> , pložaj <b>Dugolaze i Ražovine</b> , <u>vinogradi i vinarija</u> , Vinarija Nuići d.o.o.	Žilavka	44	6469788 x 4782278	Ljubuški	<b>Dugolaze</b> (G tabla) starost 6 god. Sortiment: Žilavka s pratećim kultivarima, Blatina s pratećim kultivarima i 5 alohtonih kultivara <b>Ražovine</b> sadnja 2004.; sortiment: Žilavka, Bena, blatina, Trnjak, P.Mali, Vranac
		Blatina	50	168m (Žilavka)- <b>Dugolaze</b>		
		Trnjak	50	6469294 x 478980 194m (Blatina i Trnjak)- <b>Ražovine</b>		
14.	lokalitet <b>Kosor</b> , položaj <b>Lopate I</b> <u>vinogradi i vinarija</u> , Hercegovina vino d.o.o.	Žilavka	150	6486986 x 479500	Mostar	- sadnja 2006. - 9,7 ha pod Žilavkom - 4,8 ha pod Blatinom
		Blatina	163	57m		
15.	lokalitet <b>Žitomislíci</b> , položaj <b>Donje Polje</b> <u>vinogradi i vinarija</u> , Hercegovina vino d.o.o.	Trnjak	94	6482533 x 4782713 34m	Mostar	- sadnja 2004.–2005. - sotiment: Blatina 19,4 ha, Trnjak 4,8ha, Alicante Bouschet4,8 ha

nastavak Tablice 18.

16.	lokalitet <b>Blizanci</b> , položaj <b>plantaže vinarije</b> <b>Čitluk</b> <u>vinogradi i vinarija</u> , Hercegovina vino d.o.o.	Žilavka Bena	21 82	6480831 x 4784549 264 m	Čitluk	- sadnja 1982. –1983. - sortiment Žilavka i prateći kultivari 6,3ha, Blatina 0,5ha, P.Mali 5,2 ha
17.	lokalitet <b>Vionica</b> , položaj njiva Tadić Andrije	Krkošija	10	6476374 x 4786461 247m	Čitluk	oko 300 loza. Vinograd iz 1919. - autohtoni kultivari
18.	lokalitet <b>Blizanci</b> , položaj <b>Kordića kuće</b> (vl. Ilija Kordić)	Dobrogostina	7	6478850 x 4785491 305 m	Čitluk	oko 400 loza
19.	lokalitet <b>Sovići</b> , položaj <b>Pejići</b> položaj <b>Bobanova Draga</b>	Trnjak Blatina	50 50	43°24'22.11" x 17°19'29.73" 43°23'51.64" x 17°20'53.23"	Grude	1.000 m <sup>2</sup> 700m <sup>2</sup>
20.	Kolekcijski nasad u Višićima	Svih 6 kultivara	106	6477057 x 4767882 38 m	Čapljina	

**Prilog 3. Kolekcijski nasad *Višići***

**Tablica 19.** Prikaz simptoma iz Tablica 12. – 17. Poglavlja 4.3.



Zastoj u rastu



Smanjena veličina listova



Zastoj u kretanju vegetacije



Klorotična diskoloracija



Pojava guka



Neujednačeno odrvenjavanje





Asimetričnost lista



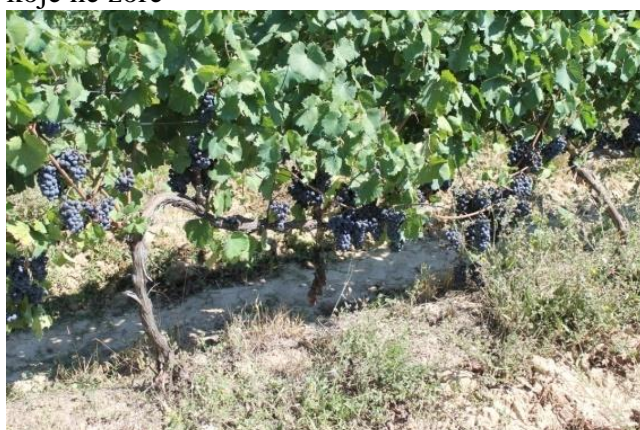
Skraćeni internodiji



Grozdovi imaju dosta neuobičajeno sitnih bobica koje ne zore



Grozdovi ne dozrijevaju



Smanjenje veličine grozdova



Rehuljavost





Crvenilo lista (u neuobičajeno vrijeme)



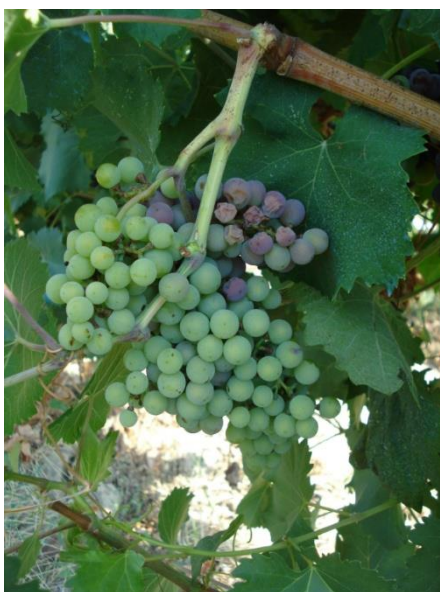
Cik-cak rast



Patuljavost



Patuljavost



Izraženo neravnomjerno odrvenjavanje rozgve i grozdovi nedozrijevaju



Grozdovi neujednačeno dozrijevaju





Zastoj u vegetaciji



Smanjenje vigora



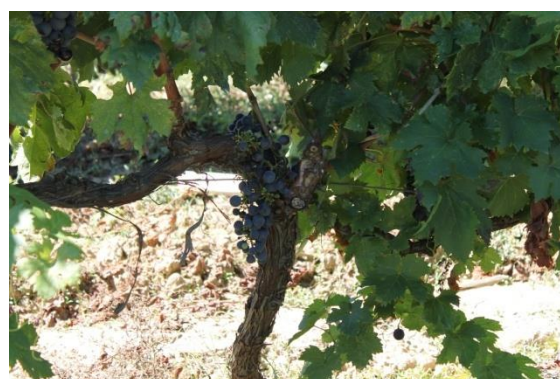
Slabiji rast mladica



Uvijenost lista



*yellow mosaic* – Mozaik lista



Grozdovi loše oplođeni

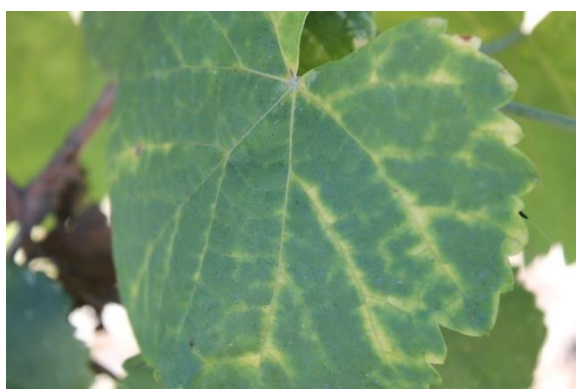




Mramoriran (list desno); list lijevo-zdravi list



Deformiranost lista



Mozaik lista



Mozaik lista – *yellow banding*



Rehuljavi grozdovi



Dozrijevanje grozdova kasni



Fascijacije



Iznenadno propadanje trsa

## Prilog 4. Rezultati analiza

Tablica 20. Rezultati serološke detekcije virusa u trsovima autohtonih kultivara kolekcijskog nasada *Višići*

Vinograd	Sorta	Broj virusa u kombinaciji	Virusna kombinacija	Pojedinačan broj uzoraka	%	Ukupan broj uzoraka
Višići	Bena	1	GLRaV-3	1	5,56	1
		2	GLRaV-3⇔GFkV	3	16,67	9
			GLRaV-1⇔GLRaV-3	2	11,11	
			ArMV⇔GLRaV-3	2	11,11	
			GFLV⇔GLRaV-3	2	11,11	
		3	GLRaV-1⇔GLRaV-3⇔GLRaV-4-9	1	5,56	2
			GFLV⇔ArMV⇔GLRaV-3	1	5,56	
		4	GLRaV-1⇔GLRaV-3⇔GLRaV-4-9⇔GFkV	2	11,11	4
	GFLV⇔GLRaV-1⇔GLRaV-3⇔GFkV		1	5,56		
	GFLV⇔ArMV⇔GLRaV-1⇔GLRaV-3		1	5,56		
	5	GFLV⇔GLRaV-1⇔GLRaV-3⇔GLRaV-4-9⇔GFkV	1	5,56	1	
	0 ( <i>virus-tested</i> )	-	1	5,56	1	
	Blatina	1	GLRaV-3	6	33,33	7
			GFLV	1	5,56	
		2	GLRaV-1⇔GLRaV-3	1	5,56	6
			GFLV⇔GLRaV-3	5	27,78	
3		ArMV GLRaV-1 GLRaV-3	1	5,56	4	
		GFLV GLRaV-3 GFkV	1	5,56		
	GFLV GLRaV-3 GLRaV 4-9	2	11,11			
	GFLV GLRaV-1 GLRaV-3	1	5,56			

nastavak Tablice 26.

Vinograd	Sorta	Broj virusa u kombinaciji	Virusna kombinacija	Pojedinačan broj uzoraka	%	Ukupan broj uzoraka
Višići	Dobrogostina	1	GLRaV-3	5	27,78	5
		2	GLRaV-3⇔GFkV	1	5,56	7
			GLRaV-3⇔GLRaV 4-9	2	11,11	
			GLRaV-1⇔GLRaV-3	2	11,11	
			GFLV⇔GLRaV-3	2	11,11	
		3	GLRaV-2⇔GLRaV-3⇔GFkV⇔GLRaV-4-9	1	5,56	5
			GLRaV-1⇔GLRaV-3⇔GFkV	1	5,56	
			GFLV⇔GLRaV-3⇔GLRaV-4-9	1	5,56	
			GFLV⇔GLRaV-1⇔GLRaV-3	1	5,56	
			GFLV⇔ArMV⇔GLRaV-3	1	5,56	
		4	GFLV⇔GLRaV-1⇔GLRaV-3⇔GFkV	1	5,56	1

nastavak Tablice 26.

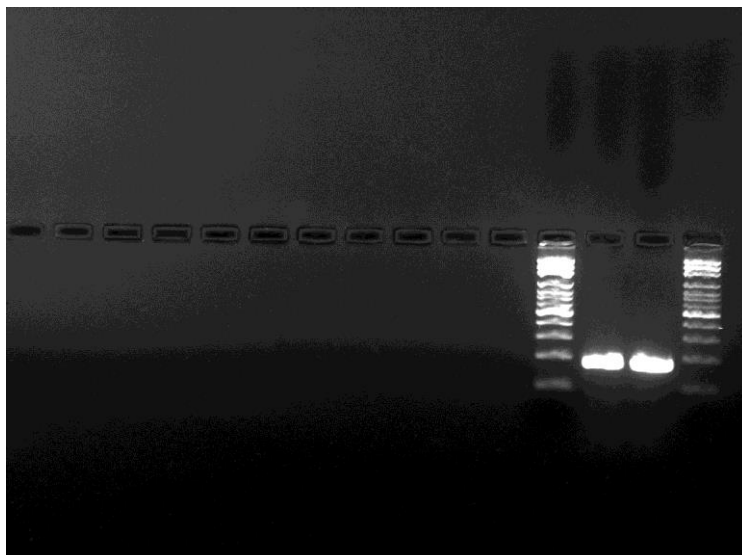
Vinograd	Sorta	Broj virusa u kombinaciji	Virusna kombinacija	Pojedinačan broj uzoraka	%	ukupan broj uzoraka
	Krkosija	1	GLRaV-3	4	25	5
			GFLV	1	5,26	
		2	GLRaV-3⇔GFkV	1	5,26	6
			GLRaV-1⇔GLRaV-3	1	5,26	
			GFLV⇔GLRaV-3	4	25	
		3	GLRaV-3⇔GLRaV-4-9⇔GFkV	1	5,26	8
			GLRaV-1⇔GLRaV-3⇔GFkV	1	5,26	
			GLRaV-1 GLRaV-3⇔GLRaV 4-9	1	5,26	
			ArMV⇔GLRaV-1⇔GLRaV-3	1	5,26	
			GFLV⇔GLRaV-3⇔GLRaV-4-9	1	5,26	
			GFLV⇔GLRaV-1⇔GLRaV-3	2	10,53	
			GFLV⇔ArMV⇔GLRaV-3	1	5,26	

nastavak Tablice 26.

Vinograd	Sorta	Broj virusa u kombinaciji	Virusna kombinacija	Pojedinačan broj uzoraka	%	Ukupan broj uzoraka
Višići	Trnjak	1	GFkV	1	6,25	5
			GLRaV-3	2	18,75	
			ArMV	1	6,25	
			GFLV	1	6,25	
		2	GLRaV-3 GFkV	1	6,25	7
	GLRaV-1 GFkV	3	18,75			
	GLRaV-1 GLRaV-3	2	18,75			
	GFLV GLRaV-3	1	6,25			
	0 ( <i>virus-tested</i> )	-	4	25	4	
	Zilavka	1	GLRaV-3	6	35,30	7
				ArMV	1	
		2	GLRaV-3 GFkV	3	17,65	9
				GLRaV-1 GLRaV-3	1	
ArMV GLRaV-3				4	23,53	
	GFLV GLRaV-3	1	5,88			
3	GFLV ArMV GLRaV-3	1	5,88	1		
<b>Total Result</b>				<b>106</b>	<b>%</b>	<b>106</b>

**Tablica 21.** Rezultati detekcije virusa metodom RT-PCR u uzorcima vinove loze u kojima su ELISA metodama detektirani virusi GLRaV-2 i GLRaV-4-9

Vinograd, položaj trsa u vinogradu te naziv i oznaka kultivara	Šifra uzorka	Virusna vrsta detektirana reakcijom RT-PCR		
Vinograd 20. Red 9 Krkošija 3	1	GLRaV-9	GLRaV-5	-
Vinograd 20. Red 11 Bena 2	2	GLRaV-9	-	-
Vinograd 20. Red 2 Dobrogostina 3	3	-	-	GLRaV-2
Vinograd 20. Red 4 Krkošija (3 polje) 5	4	-	-	-
Vinograd 20. Red 13 Krkošija 5	5	-	-	-
Vinograd 20. red 15 Dobrogostina (2 polje) 5	6	-	-	-
Vinograd 20. red 15 Dobrogostina 4	7	-	-	-
Vinograd 20. red 2 Krkošija 4	8	GLRaV-9	-	-
Vinograd 20. red 15 Dobrogostina 1	9	GLRaV-9	-	-
Vinograd 20. red 11 (polje 4) Bena 3	10	-	-	-
Vinograd 20. red 13 Bena 4	11	-	-	-
Vinograd 20. red 15 Blatina 2	12	-	-	-
Vinograd 18. red 9 (I) Dobrogostina 6 (S)	13	-	-	-
Vinograd 14. tabla 3 red 4 Žilavka 1	14	-	-	-
Vinograd 15. tabla 4 red 5 Trnjak 11	15	-	-	-
Vinograd 15. tabla 4 red 5 Trnjak 12	16	-	-	-
Vinograd 15. tabla 4 red 5 Trnjak 1	17	GLRaV-9	GLRaV-5	-
Vinograd 15. tabla 4 red 5 Trnjak 2	18	-	-	-
Vinograd 6. red 5 Bena 21	19	-	-	-
Vinograd 6. red 5 Bena 6	20	-	-	-
Vinograd 6. red 5 Bena 24	21	-	GLRaV-5	-
Vinograd 6. red 5 Bena 34	22	-	GLRaV-5	-
Vinograd 3. red 3 Dobrogostina 13	23	-	-	-
Vinograd 13. red 61 Blatina 11	24	GLRaV-9	-	-
Vinograd 13. red 11 Trnjak 24	25	-	-	-
Vinograd 16. Tabla 4 red 35 Bena 26	26	GLRaV-9	GLRa -5	-
Vinograd 16. Tabla 4 red 35 Bena 10	27	-	GLRaV-5	-



**Slika 13.** Vizualizacija cDNA na agaroznom gelu nakon provedene reverzne transkripcije izolirane RNA iz uzorka vinove loze oznake R 2 D 33 iz Višića.



**Tablica 28.** Prikaz rezultata detekcije devet virusa (GFLV, ArMV, GLRaV -1, GLRaV -2, GLRaV -3, GLRaV -4-9, GFkV, GVA, GVB) serološkim metodama (ELISA) u svim uzorcima autohtonih kultivara vinove loze uključenih u istraživanje. Uz svaki je izorak navedena točna oznaka uzorka (pozicija u vinogradu), kao i oznaka lokacije (vinograda) sukladno Tablici 18. Poglavlja 2.

Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GFkV	GVA	GVB	Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GFkV	GVA	GVB
1.	1.	R 6 K 1	-	-	+	-	-	-	-	-	-	31.	2.	R 14 D 13	+	-	-	-	+	-	-	-	-
2.	1.	R 6 K 2	-	-	+	-	-	-	+	-	-	32.	2.	R 43 D 4	+	-	-	-	+	-	-	-	-
3.	1.	R 6 K 3	-	-	+	-	-	-	+	-	-	33.	2.	R 43 D 3	+	-	-	-	+	-	-	-	-
4.	1.	R 6 K 4	-	-	-	+	-	+	+	-	-	34.	2.	UR 2 D 8	+	-	-	-	+	-	-	-	-
5.	1.	R 6 K 5	-	-	+	-	-	-	-	-	-	35.	2.	UR 2 D 3	+	-	-	-	+	-	-	-	-
6.	1.	R 6 K 6	-	-	+	-	-	-	-	-	-	36.	2.	UR 2 D 11	+	-	+	-	+	-	-	-	-
7.	1.	R 6 K 7	-	-	+	-	-	-	-	-	-	37.	2.	UR 2 D 5	+	-	-	-	+	-	-	-	-
8.	1.	R 6 K 8	-	-	+	-	-	-	-	-	-	38.	2.	UR 2 D 7	+	-	+	-	+	-	-	-	-
9.	1.	R 6 K 9	-	-	+	-	-	-	-	-	-	39.	2.	UR 3 D 2	+	-	+	-	+	-	-	-	-
10.	1.	R 6 K 10	-	-	+	-	-	-	-	-	-	40.	2.	UR 3 D 7	+	-	-	-	+	-	-	-	-
11.	1.	R 6 K 11	-	-	+	-	-	-	-	-	-	41.	2.	UR 1 D 1	+	-	-	-	+	-	-	-	-
12.	1.	R 6 K 13	-	-	+	-	-	-	-	-	-	42.	2.	R 7 D 11	+	-	+	-	+	-	-	-	-
13.	1.	R 6 K 14	-	-	+	-	-	-	-	-	-	43.	2.	UR 3 D 6	+	-	+	-	+	-	-	-	-
14.	1.	R 6 K 15	-	-	+	-	-	-	-	-	-	44.	2.	UR 1 T 7	+	-	-	-	+	-	-	-	-
15.	1.	R 6 K 16	-	-	+	-	-	-	-	-	-	45.	2.	UR 2 D 6	+	-	-	-	+	-	-	-	-
16.	1.	R 6 K 17	-	-	+	-	-	-	+	-	-	46.	2.	UR 2 D 10	+	-	-	-	+	-	-	-	-
17.	1.	R 6 K 18	-	-	+	-	-	-	+	-	-	47.	2.	UR 2 D 1	+	-	-	-	+	-	-	-	-
18.	1.	R 6 K 19	-	-	-	-	-	+	-	-	-	48.	2.	UR 1 D 12	+	-	+	-	+	-	-	-	-
19.	1.	R 6 K 20	-	-	+	-	-	-	-	-	-	49.	2.	UR 1 D 11	+	-	-	-	+	-	-	-	-
20.	1.	R 6 K 21	-	-	+	-	-	-	+	-	-	50.	2.	UR 1 D 10	-	-	-	-	+	-	-	-	-
21.	1.	R 6 K 22	-	-	+	-	-	-	-	-	-	51.	2.	UR 1 D 13	+	-	-	-	+	-	-	-	-
22.	1.	R 6 K 23	-	-	+	-	-	-	+	-	-	52.	2.	UR 2 D 9	+	-	-	-	+	-	-	-	-
23.	1.	R 6 K 24	-	-	+	-	-	-	-	-	-	53.	2.	UR 2 D 2	+	-	+	-	+	-	-	-	-
24.	1.	R 6 K 25	-	-	+	-	-	-	+	-	-	54.	2.	UR 1 D 4	+	-	-	-	+	-	-	-	-
25.	1.	R 6 K 26	-	-	+	-	-	-	+	-	-	55.	2.	UR 1 D 6	+	-	-	-	+	-	-	-	-
26.	2.	R 13 D 8	+	-	-	-	+	-	-	-	-	56.	2.	UR 4 D 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-
27.	2.	R 11 D 2	+	-	-	-	+	-	-	-	-	57.	2.	UR 1 D 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-
28.	2.	R 13 D 9	+	-	-	-	+	-	-	-	-	58.	2.	UR 1 D 5	+	-	-	-	+	-	-	-	-
29.	2.	R 10 D 10	+	-	-	-	+	-	-	-	-	59.	3.	R 1 D 23	+	-	+	-	+	-	-	-	-
30.	2.	R 11 D 5	+	-	-	-	+	-	-	-	-	60.	3.	R 1 D 24	+	-	-	-	+	-	-	-	-

nastavak Tablice 28.

Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GfKV	GVA	GVB	Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GfKV	GVA	GVB
61.	3.	R 2 D 6	+	-	+	-	+	-	-	-	-	98.	4.	R 2 D 14	-	-	-	-	+	-	-	-	-
62.	3.	R 2 D 17	+	-	-	-	+	-	-	-	-	99.	4.	R 2 D 13	+	-	-	-	+	-	-	-	-
63.	3.	R 2 D 19	+	-	-	-	+	-	-	-	-	100.	4.	R 2 D 3	+	-	-	-	+	-	-	-	-
64.	3.	R 2 D 23	+	-	-	-	+	-	-	-	-	101.	4.	R 3 D 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65.	3.	R 3 D 7	-	-	+	-	+	-	-	-	-	102.	4.	R 4 D 16	+	-	-	-	+	-	-	-	-
66.	3.	R 3 D 11	+	-	-	-	+	-	-	-	-	103.	4.	R 3 D 18	-	-	-	-	+	-	-	-	-
67.	3.	R 3 D 13	+	-	+	-	+	+	-	-	-	104.	4.	R 3 D 11	-	-	-	-	+	-	-	-	-
68.	3.	R 3 D 20	+	-	-	-	+	-	-	-	-	105.	4.	R 3 D 9	-	-	-	-	+	-	-	-	-
69.	3.	R 4 D 1	+	-	-	-	+	-	+	-	-	106.	4.	R 3 D 14	+	-	-	-	+	-	-	-	-
70.	3.	R 4 D 2	-	-	+	-	+	-	-	-	-	107.	4.	R 4 D 13	-	-	-	-	-	-	-	-	-
71.	3.	R 4 D 4	+	-	-	-	+	-	-	-	-	108.	4.	R 4 D 9	-	-	-	-	+	-	-	-	-
72.	3.	R 4 D 6	+	-	+	-	+	-	+	-	-	109.	4.	R 4 D 12	-	-	-	-	+	-	-	-	-
73.	3.	R 4 D 8	+	-	+	-	+	-	+	-	-	110.	4.	R 8 D 13	-	-	-	-	+	-	-	-	-
74.	3.	R 4 D 10	+	-	+	-	+	-	-	-	-	111.	4.	R 8 D 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
75.	3.	R 4 D 16	+	-	+	-	+	-	-	-	-	112.	4.	R 7 D 12	-	-	-	-	+	-	-	-	-
76.	4.	R 11 K 8	+	-	+	-	+	-	-	-	-	113.	4.	R 0 GOMILA D	+	-	+	-	-	-	-	-	-
77.	4.	R 11 K 15	+	-	-	-	+	-	-	-	-	114.	4.	R 6 D 15	-	-	-	-	+	-	-	-	-
78.	4.	R 10 K 4	+	-	-	-	+	-	-	-	-	115.	4.	R 8 D 7	-	-	-	-	+	-	-	-	-
79.	4.	R 11 K 5	+	-	+	-	+	-	-	-	-	116.	4.	R 8 D 16	+	-	-	-	+	-	-	-	-
80.	4.	R 11 K 7	+	-	+	-	+	-	-	-	-	117.	4.	R 6 D 3	+	-	-	-	+	-	-	-	-
81.	4.	R 11 K 6	-	-	+	-	+	-	-	-	-	118.	4.	R 6 D 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
82.	4.	R 10 K 6	-	-	+	-	+	-	-	-	-	119.	4.	R 7 D 8	-	-	-	-	+	-	-	-	-
83.	4.	R 10 K 15	+	-	-	-	+	-	-	-	-	120.	4.	R 6 D 13	-	-	-	-	+	-	-	-	-
84.	4.	R 10 K 3	+	-	-	-	+	-	-	-	-	121.	4.	R 6 D 10	-	-	-	-	+	-	-	-	-
85.	4.	R 10 K 2	+	-	-	-	+	-	-	-	-	122.	4.	R 5 D 16	-	-	-	-	+	-	-	-	-
86.	4.	R 11 K 11	+	-	+	-	+	-	-	-	-	123.	4.	R 6 D 16	-	-	-	-	-	-	-	-	-
87.	4.	R 11 K 10	+	-	+	-	+	-	-	-	-	124.	4.	R 5 D 10	-	-	-	-	+	-	-	-	-
88.	4.	R 10 K 14	+	-	-	-	+	-	-	-	-	125.	4.	R 6 D 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
89.	4.	R 2 D 6	+	-	-	-	+	-	-	-	-	126.	4.	R 5 D 17	-	-	-	-	+	-	-	-	-
90.	4.	R 3 D 4	-	-	+	-	+	-	-	-	-	127.	4.	R 5 D 5	-	-	-	-	+	-	-	-	-
91.	4.	R 3 D 3	-	-	+	-	+	-	-	-	-	128.	4.	R 5 D 8	-	-	-	-	+	-	-	-	-
92.	4.	R 3 D 12	+	-	-	-	+	-	-	-	-	129.	4.	R 6 D 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
93.	4.	R 2 D 10	-	-	-	-	+	-	-	-	-	130.	4.	R 6 D 5	-	-	-	-	+	-	-	-	-
94.	4.	R 2 D 7	+	-	-	-	+	-	-	-	-	131.	5.	T 12 R 13 Bl 5	+	-	-	-	+	-	+	-	-
95.	4.	R 2 D 9	-	-	-	-	+	-	-	-	-	132.	5.	T 12 R 13 Bl 2	+	-	-	-	+	-	-	-	-
96.	4.	R 2 D 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-	133.	5.	T 12 R 13 Bl 4	+	-	-	-	+	-	-	-	-
97.	4.	R 1 D 4	+	-	-	-	+	-	-	-	-	134.	5.	T 12 R 13 Bl 1	+	-	-	-	-	-	-	-	-

nastavak Tablice 28.

Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV- 4-9	GFKV	GVA	GVB	Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV- 4-9	GFKV	GVA	GVB	
135.	5.	T 12 R 13 BI 10	+	-	-	-	+	-	-	-	-	172.	5.	T 12 R 15 BI 4	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
136.	5.	T 12 R 13 BI 12	+	-	-	-	+	-	-	-	-	173.	5.	T 12 R 15 BI 9	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
137.	5.	T 12 R 13 BI 6	+	-	-	-	+	-	+	-	-	174.	5.	T 12 R 15 BI 8	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
138.	5.	T 12 R 13 BI 15	+	-	-	-	+	-	+	-	-	175.	5.	T 12 R 15 BI 31	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
139.	5.	T 12 R 13 BI 11	+	-	-	-	+	-	-	-	-	176.	5.	T 12 R 15 BI 30	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
140.	5.	T 12 R 13 BI 7	+	-	-	-	+	-	-	-	-	177.	5.	T 12 R 15 BI 7	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
141.	5.	T 12 R 13 BI 8	+	-	-	-	+	-	+	-	-	178.	5.	T 12 R 15 BI 29	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
142.	5.	T 12 R 13 BI 16	-	-	+	-	-	-	-	-	-	179.	5.	T 12 R 15 BI 18	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
143.	5.	T 12 R 13 BI 3	+	-	-	-	-	-	+	-	-	180.	5.	T 12 R 15 BI 16	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
144.	5.	T 12 R 13 BI 27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	181.	5.	T 12 R 15 BI 20	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
145.	5.	T 12 R 13 BI 18	+	-	-	-	-	-	-	-	-	182.	5.	T 12 R 15 BI 21	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
146.	5.	T 12 R 13 BI 21	+	-	-	-	+	-	+	-	-	183.	5.	T 12 R 15 BI 19	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
147.	5.	T 12 R 13 BI 9	+	-	-	-	+	+	+	-	-	184.	5.	T 12 R 15 BI 17	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
148.	5.	T 12 R 13 BI 19	+	-	-	-	+	-	-	-	-	185.	5.	T 12 R 15 BI 23	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
149.	5.	T 12 R 13 BI 17	+	-	-	-	-	-	-	-	-	186.	5.	T 12 R 15 BI 27	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
150.	5.	T 12 R 13 BI 26	+	-	-	-	-	-	-	-	-	187.	5.	T 12 R 15 BI 22	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
151.	5.	T 12 R 13 BI 20	+	-	-	-	-	-	+	-	-	188.	5.	T 12 R 15 BI 25	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
152.	5.	T 12 R 13 BI 24	+	-	-	-	-	-	-	-	-	189.	5.	T 12 R 15 BI 26	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
153.	5.	T 12 R 13 BI 23	+	-	+	-	-	-	-	-	-	190.	5.	T 12 R 15 BI 32	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
154.	5.	T 12 R 13 BI 22	+	-	-	-	+	-	+	-	-	191.	6.	R 5 Be 1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
155.	5.	T 12 R 13 BI 25	+	-	-	-	+	-	-	-	-	192.	6.	R 5 Be 2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
156.	5.	T 12 R 13 BI 13	+	-	+	-	-	-	-	-	-	193.	6.	R 5 Be 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
157.	5.	T 16 R 2 T 30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	194.	6.	R 5 Be 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
158.	5.	T 16 R 2 T 27	-	-	+	-	-	-	-	-	-	195.	6.	R 5 Be 6	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
159.	5.	T 16 R 2 T 29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	196.	6.	R 5 Be 7	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
160.	5.	T 16 R 2 T 23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	197.	6.	R 5 Be 8	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
161.	5.	T 16 R 2 T 28	+	-	-	-	-	-	-	-	-	198.	6.	R 5 Be 9	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
162.	5.	T 16 R 2 T 6+3	-	-	+	-	-	-	-	-	-	199.	6.	R 5 Be 10	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
163.	5.	T 16 R 2 T 13	+	-	+	-	-	-	-	-	-	200.	6.	R 5 Be 11	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
164.	5.	T 16 R 2 T 12	+	-	-	-	-	-	-	-	-	201.	6.	R 5 Be 12	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
165.	5.	T 12 R 15 BI 11	+	-	-	-	+	-	-	-	-	202.	6.	R 5 Be 13	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
166.	5.	T 12 R 15 BI 14	+	-	-	-	+	-	+	-	-	203.	6.	R 5 Be 14	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
167.	5.	T 12 R 15 BI 2	+	-	-	-	-	-	-	-	-	204.	6.	R 5 Be 15	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
168.	5.	T 12 R 15 BI 12	+	-	-	-	+	-	-	-	-	205.	6.	R 5 Be 16	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
169.	5.	T 12 R 15 BI 5	+	-	-	-	+	-	-	-	-	206.	6.	R 5 Be 18	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
170.	5.	T 12 R 15 BI 1	+	-	-	-	+	-	-	-	-	207.	6.	R 5 Be 19	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
171.	5.	T 12 R 15 BI 3	+	-	+	-	-	+	+	-	-	208.	6.	R 5 Be 20	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-

nastavak Tablice 28.

Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV- 4-9	GFKV	GVA	GVB	Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV- 4-9	GFKV	GVA	GVB
209.	6.	R 5 Be 21	-	-	-	-	+	+	-	-	-	246.	6.	R 10 T 27	-	-	-	-	+	-	-	-	-
210.	6.	R 5 Be 22	-	-	-	-	+	-	-	-	-	247.	6.	R 10 T 31	-	-	-	-	-	-	-	-	-
211.	6.	R 5 Be 23	-	-	-	-	+	-	-	-	-	248.	6.	R 10 T 33	-	-	-	-	-	-	-	-	-
212.	6.	R 5 Be 24	+	-	-	-	+	+	-	-	-	249.	6.	R 10 T 35	-	-	-	-	-	-	-	-	-
213.	6.	R 5 Be 25	-	-	-	-	+	-	-	-	-	250.	6.	R 10 T 37	-	-	-	-	-	-	-	-	-
214.	6.	R 5 Be 26	-	-	-	-	+	-	-	-	-	251.	7.	R 7 Be 30	+	-	-	-	+	-	-	-	-
215.	6.	R 5 Be 27	-	-	+	-	+	-	-	-	-	252.	7.	R 7 Be 31	+	-	-	-	+	-	+	-	-
216.	6.	R 5 Be 28	-	-	+	-	+	-	-	-	-	253.	7.	R 7 Be 32	+	-	-	-	+	-	-	-	-
217.	6.	R 5 Be 29	-	-	-	-	+	-	-	-	-	254.	7.	R 5 (6) Be 7	+	-	+	-	-	-	-	-	-
218.	6.	R 5 Be 30	-	-	-	-	+	-	+	-	-	255.	7.	R 7 Be 6	+	-	-	-	+	-	-	-	-
219.	6.	R 5 Be 31	-	-	+	-	+	-	-	-	-	256.	7.	R 6 (7) Be 15	+	-	-	-	+	-	-	-	-
220.	6.	R 5 Be 33	-	-	-	-	+	-	-	-	-	257.	7.	R 7 Be 15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
221.	6.	R 5 Be 34	-	-	+	-	+	-	+	-	-	258.	7.	R 7 Be 12	+	-	-	-	+	-	+	-	-
222.	6.	R 5 Be 36	-	-	+	-	+	-	+	-	-	259.	7.	R 7 Be 16	-	-	+	-	+	-	-	-	-
223.	6.	R 5 Be 37	+	-	-	-	+	-	-	-	-	260.	7.	R 7 Be 7	-	-	-	-	+	-	-	-	-
224.	6.	R 5 Be 38	-	-	-	-	+	-	-	-	-	261.	7.	R 6 (7) Be 2	+	-	-	-	+	-	-	-	-
225.	6.	R 5 Be 39	-	-	+	-	+	-	+	-	-	262.	7.	R 6 (7) Be 6	+	-	+	-	+	-	+	-	-
226.	6.	R 5 Be 40	+	-	-	-	+	-	-	-	-	263.	7.	R 6 (7) Be 17	-	-	-	-	+	-	-	-	-
227.	6.	R 5 Be 41	-	-	-	-	+	-	-	-	-	264.	7.	R 6 (7) Be 12	+	-	+	-	+	+	-	-	-
228.	6.	R 10 T 1	-	-	+	-	-	-	-	-	-	265.	7.	R 7 Be 1	+	-	-	-	+	-	-	-	-
229.	6.	R 10 T 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	266.	7.	R 7 Be 4	+	-	+	-	-	-	-	-	-
230.	6.	R 10 T 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	267.	7.	R 7 Be 9	+	-	-	-	+	-	+	-	-
231.	6.	R 10 T 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	268.	7.	R 7 Be 23	+	-	-	-	+	-	-	-	-
232.	6.	R 10 T 6	-	-	+	-	-	-	+	-	-	269.	7.	R 7 Be 25	+	-	-	-	+	-	-	-	-
233.	6.	R 10 T 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	270.	7.	R 6 (7) Be 26	+	-	-	-	-	-	-	-	-
234.	6.	R 10 T 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	271.	7.	R 7 Be 33	-	-	-	-	-	-	-	-	-
235.	6.	R 10 T 11	-	-	+	-	-	-	-	-	-	272.	7.	R 7 Be 29	+	-	-	-	-	-	-	-	-
236.	6.	R 10 T 12	+	-	-	-	+	-	-	-	-	273.	7.	R 7 Be 8	-	-	-	-	+	-	+	-	-
237.	6.	R 10 T 13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	274.	7.	R 7 Be 18	-	-	-	-	+	-	+	-	-
238.	6.	R 10 T 14	-	-	+	-	-	-	-	-	-	275.	7.	R 7 Be 20	+	-	+	-	-	-	-	-	-
239.	6.	R 10 T 15	-	-	+	-	-	-	-	-	-	276.	7.	R 7 Be 10	-	-	-	-	+	-	+	-	-
240.	6.	R 10 T 19	-	-	-	-	+	-	-	-	-	277.	7.	R 7 Be 13	-	-	-	-	-	-	-	-	-
241.	6.	R 10 T 20	-	-	-	-	+	-	-	-	-	278.	7.	R 7 Be 28	+	-	-	-	+	+	+	-	-
242.	6.	R 10 T 21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	279.	7.	R 7 Be 24	+	-	-	-	-	-	-	-	-
243.	6.	R 10 T 23	-	-	+	-	-	-	-	-	-	280.	8.	R1 K 1	-	-	+	-	+	-	-	-	-
244.	6.	R 10 T 24	-	-	-	-	+	-	-	-	-	281.	8.	R1 K 2	-	-	-	-	+	-	-	-	-
245.	6.	R 10 T 25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	282.	8.	R1 K 27	+	-	-	-	+	+	+	-	-

nastavak Tablice 28.

Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GFKV	GVA	GVB	Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GFKV	GVA	GVB	
283.	8.	R1 K 32	+	-	-	-	-	-	-	-	-	323.	9.	R 6 Ž 31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
284.	8.	R1 K 36	+	-	+	-	+	+	-	-	-	324.	9.	R 6 Ž 2	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
285.	8.	R1 K 37	+	-	-	-	-	-	-	-	-	325.	9.	R 6 Ž 29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
286.	8.	R1 K 41	+		+	-	+	-	-	-	-	326.	9.	R 6 Ž 6	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
287.	8.	R1 K 44	-	-	+	-	+	-	-	-	-	327.	9.	R 6 Ž 23	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
288.	8.	R1 K 45	-	-	+	-	-	-	-	-	-	328.	9.	R 6 Ž 13	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
289.	8.	R1 K 46	+	-	+	-	+	+	-	-	-	329.	9.	R 6 Ž 20	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
290.	8.	R1 K 47	-	-	+	-	+	-	-	-	-	330.	9.	R 6 Ž 25	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
291.	8.	R1 K 51	-	-	+	-	+	-	-	-	-	331.	9.	R 6 Ž 9	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
292.	8.	R1 K 52	+	-	+	-	+	+	-	-	-	332.	9.	R 6 Ž 17	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
293.	8.	R1 K 54	-	-	+	-	+	-	-	-	-	333.	9.	R 6 Ž 21	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
294.	8.	R1 K 55	-	-	-	-	+	-	-	-	-	334.	9.	R 6 Ž 11	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
295.	8.	R1 K 56	-	-	-	-	+	-	-	-	-	335.	9.	R 6 Ž 16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
296.	8.	R1 K 58	-	-	-	-	+	-	-	-	-	336.	9.	R 6 Ž 33	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
297.	8.	R1 K 59	-	-	+	-		-	-	-	-	337.	9.	R 6 Ž 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
298.	8.	R1 K 60	+	-	-	-	+	-	-	-	-	338.	9.	R 6 Ž 28	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
299.	8.	R1 K 64	-	-	+	-	+	-	-	-	-	339.	9.	R 6 Ž 1	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
300.	8.	R1 K 65	+	-	+	-	+	+	-	-	-	340.	9.	R 11 Bl 10	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
301.	8.	R1 K 67	-	-	+	-	+	-	-	-	-	341.	9.	R 11 Bl 6	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
302.	8.	R1 K 69	-	-	+	-	+	-	-	-	-	342.	9.	R 4 Bl 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
303.	8.	R1 K 75	+	-	+	-	+	-	-	-	-	343.	9.	R 4 Bl 1	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
304.	8.	R1 K 76	-	-	+	-	+	-	-	-	-	344.	9.	R 6 Bl 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
305.	8.	R1 K 78	+	-	-	-	+	-	-	-	-	345.	9.	R 3 Bl 6	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
306.	8.	R1 K 79	-	-	-	-	+	-	-	-	-	346.	9.	R 7 Bl 1	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
307.	8.	R1 K 81	-	-	+	-	+	-	+	-	-	347.	9.	R 11 Bl 7	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
308.	8.	R1 K 87	+	-	+	-	+	-	-	-	-	348.	9.	R 6 Bl 4	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
309.	8.	R1 K 102	+	-	+	-	+	-	-	-	-	349.	9.	R 11 Bl 4	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
310.	8.	R1 K 109	-	-	+	-	+	-	-	-	-	350.	9.	R 3 Bl 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
311.	8.	R1 K 111	-	-	+	-	+	-	-	-	-	351.	9.	R 4 Bl 5	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
312.	8.	R1 K 112	-	-	+	-		+	-	-	-	352.	9.	R 1 Bl 8	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
313.	8.	R1 K 113	+	-	+	-	+	+	-	-	-	353.	9.	R 5 Bl 1	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
314.	8.	R1 K 114	-	-	+	-	+	-	-	-	-	354.	9.	R 4 Bl 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
315.	8.	R1 K 115	-	-	-	-	+	-	-	-	-	355.	9.	R 4 Bl 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
316.	8.	R1 K 118	+	-	-	-	+	-	-	-	-	356.	9.	R 4 Bl 10	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
317.	8.	R1 K 122	+	-	+	-	+	-	-	-	-	357.	9.	R 5 Bl 6	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
318.	8.	R1 K 124	-	-	+	-		-	-	-	-	358.	9.	R 3 Bl 5	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
319.	8.	R1 K 128	+	-	-	-	+	-	+	-	-	359.	10.	R 1 T 51	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
320.	8.	R1 K 132	+	-	-	-	+	-	-	-	-	360.	10.	R 1 T 47	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
321.	8.	R1 K 135	+	-	+	-	+	-	-	-	-	361.	10.	R 1 T 45	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
322.	8.	R 1 K 144	+	-	-	-	-	-	-	-	-	362.	10.	R 1 T 44	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

nastavak Tablice 28.

Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GFkV	GVA	GVB	Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GFkV	GVA	GVB
363.	10.	R 1 T 46	+	-	-	-	-	-	-	-	-	400.	10.	R 1 T 32	+	-	+	-	-	-	-	-	-
364.	10.	R 1 T 50	+	-	-	-	-	-	-	-	-	401.	10.	R 1 T 20	+	-	-	-	-	-	-	-	-
365.	10.	R 1 T 43	+	-	+	-	+	-	-	-	-	402.	10.	R 1 T 29	+	-	+	-	-	-	-	-	-
366.	10.	R 1 T 49	+	-	-	-	-	-	-	-	-	403.	10.	R 1 T 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
367.	10.	R 1 T 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	404.	10.	R 1 T 8	-	-	-	-	+	-	-	-	-
368.	10.	R 1 T 55	+	-	-	-	-	-	-	-	-	405.	10.	R 1 T 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
369.	10.	R 1 T 52	+	-	-	-	-	-	-	-	-	406.	10.	R 1 T 22	+	-	-	-	-	-	-	-	-
370.	10.	R 1 T 48	+	-	-	-	-	-	-	-	-	407.	10.	R 1 T 23	+	-	-	-	-	-	-	-	-
371.	10.	R 1 T 53	+	-	-	-	+	-	-	-	-	408.	10.	R 1 T 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
372.	10.	R 1 T 54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	409.	10.	R 1 T 28	+	-	+	-	-	-	-	-	-
373.	10.	R 1 T 27	+	-	+	-	-	-	-	-	-	410.	10.	R 1 T 10	-	-	-	-	+	-	-	-	-
374.	10.	R 1 T 35	+	-	+	-	+	-	-	-	-	411.	10.	R 1 T 39	+	-	+	-	+	-	-	-	-
375.	10.	R 1 T 36	+	-	+	-	+	-	-	-	-	412.	11.	R 5 T 11	+	-	+	-	-	-	-	-	-
376.	10.	R 1 T 34	+	-	+	-	+	-	-	-	-	413.	11.	R 5 T 14	+	-	-	-	-	-	-	-	-
377.	10.	R 1 T 38	+	-	+	-	+	-	-	-	-	414.	11.	R 5 T 15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
378.	10.	R 1 T 37	+	-	+	-	+	-	-	-	-	415.	11.	R 5 T 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
379.	10.	R 1 T 41	+	-	+	-	+	-	-	-	-	416.	11.	R 5 T 8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
380.	10.	R 1 T 18	+	-	-	-	-	-	-	-	-	417.	11.	R 5 T 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
381.	10.	R 1 T 42	+	-	+	-	+	-	-	-	-	418.	11.	R 5 T 13	-	-	-	-	-	-	-	-	-
382.	10.	R 1 T 17	+	-	-	-	-	-	-	-	-	419.	11.	R 5 T 12	+	-	-	-	-	-	-	-	-
383.	10.	R 1 T 40	+	-	+	-	+	-	-	-	-	420.	11.	R 5 T 17	-	-	-	-	+	-	-	-	-
384.	10.	R 1 T 19	+	-	-	-	-	-	-	-	-	421.	11.	R 5 T 10	+	-	+	-	-	-	-	-	-
385.	10.	R 1 T 21	+	-	-	-	-	-	-	-	-	422.	11.	R 5 T 1	-	-	+	-	-	-	-	-	-
386.	10.	R 1 T 16	+	-	-	-	-	-	-	-	-	423.	11.	R 5 T 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
387.	10.	R 1 T 26	+	-	+	-	-	-	-	-	-	424.	11.	R 5 T 2	-	-	+	-	-	-	-	-	-
388.	10.	R 1 T 25	+	-	-	-	-	-	-	-	-	425.	11.	R 5 T 9	+	-	-	-	-	-	-	-	-
389.	10.	R 1 T 15	+	-	-	-	-	-	-	-	-	426.	11.	R 5 T 5	-	-	-	-	-	-	+	-	-
390.	10.	R 1 T 12	+	-	-	-	-	-	-	-	-	427.	12.	R 1 Ž 1	+	-	-	-	+	-	-	-	-
391.	10.	R 1 T 7	-	-	-	-	+	-	-	-	-	428.	12.	R 1 Ž 2	-	-	-	-	+	-	-	-	-
392.	10.	R 1 T 13	+	-	-	-	-	-	-	-	-	429.	12.	R 1 Ž 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-
393.	10.	R 1 T 11	+	-	-	-	-	-	-	-	-	430.	12.	R 1 Ž 4	+	-	-	-	+	-	+	-	-
394.	10.	R 1 T 31	+	-	+	-	-	-	-	-	-	431.	12.	R 1 Ž 5	-	-	-	-	+	-	-	-	-
395.	10.	R 1 T 30	+	-	+	-	-	-	-	-	-	432.	12.	R 1 Ž 6	-	-	-	-	+	-	-	-	-
396.	10.	R 1 T 33	+	-	+	-	-	-	-	-	-	433.	12.	R 1 Ž 7	-	-	-	-	+	-	-	-	-
397.	10.	R 1 T 24	+	-	-	-	-	-	-	-	-	434.	12.	R 1 Ž 8	-	-	-	-	+	-	-	-	-
398.	10.	R 1 T 9	-	-	-	-	+	-	-	-	-	435.	12.	R 1 Ž 9	-	-	-	-	+	-	-	-	-
399.	10.	R 1 T 14	+	-	-	-	-	-	-	-	-	436.	12.	R 1 Ž 10	-	-	+	-	+	-	-	-	-

nastavak Tablice 28.

Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV- 4-9	GFKV	GVA	GVB	Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV- 4-9	GFKV	GVA	GVB
437.	12.	R 1 Ž 11	-	-	+	-	+	-	+	-	-	474.	13.	R 61 Bl 6	+	-	-	-	+	-	-	-	-
438.	12.	R 1 Ž 12	-	-	-	-	+	-	-	-	-	475.	13.	R 61 Bl 3	+	-	-	-	+	-	+	-	-
439.	12.	R 1 Ž 13	-	-	-	-	+	-	+	-	-	476.	13.	R 59 Bl 12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
440.	12.	R 1 Ž 14	-	-	+	-	+	-	+	-	-	477.	13.	R 61 Bl 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-
441.	12.	R 1 Ž 15	-	-	+	-	+	-	+	-	-	478.	13.	R 61 Bl 5	+	-	-	-	-	-	-	-	-
442.	12.	R 1 Ž 16	-	-	-	-	+	-	-	-	-	479.	13.	R 61 Bl 7	+	-	-	-	+	-	-	-	-
443.	12.	R 1 Ž 17	-	-	-	-	+	-	+	-	-	480.	13.	R 61 Bl 8	+	-	-	-	+	-	+	-	-
444.	12.	R 1 Ž 18	-	-	-	-	+	-	-	-	-	481.	13.	R 61 Bl 9	-	-	-	-	+	-	+	-	-
445.	12.	R 1 Ž 19	-	-	-	-	+	-	-	-	-	482.	13.	R 61 Bl 10	+	-	-	-	+	-	-	-	-
446.	12.	R 1 Ž 20	-	-	+	-	+	-	-	-	-	483.	13.	R 59 Bl 7	+	-	-	-	+	-	-	-	-
447.	12.	R 1 Ž 21	-	-	-	-	+	-	-	-	-	484.	13.	R 61 Bl 11	+	-	-	-	+	+	+	-	-
448.	12.	R 1 Ž 22	-	-	-	-	+	-	+	-	-	485.	13.	R 56 Bl 5	-	-	-	-	+	-	-	-	-
449.	12.	R 1 Ž 23	+	-	-	-	+	-	+	-	-	486.	13.	R 58 Bl 6	+	-	-	-	+	-	-	-	-
450.	12.	R 1 Ž 24	-	-	-	-	+	-	-	-	-	487.	13.	R 58 Bl 5	+	-	-	-	+	-	+	-	-
451.	12.	R 1 Ž 25	-	-	-	-	+	-	-	-	-	488.	13.	R 55 Bl 2	-	-	-	-	+	-	-	-	-
452.	12.	R 1 Ž 27	-	-	+	-	+	-	-	-	-	489.	13.	R 56 Bl 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-
453.	12.	R 1 Ž 28	-	-	+	-	+	-	-	-	-	490.	13.	R 58 Bl 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-
454.	12.	R 1 Ž 29	-	-	-	-	+	-	-	-	-	491.	13.	R 55 Bl 7	+	-	-	-	+	-	+	-	-
455.	12.	R 1 Ž 30	-	-	-	-	+	-	-	-	-	492.	13.	R 55 Bl 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-
456.	13.	R 56 Bl 2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	493.	13.	R 55 Bl 8	+	-	-	-	+	-	+	-	-
457.	13.	R 58 Bl 12	-	-	-	-	+	-	+	-	-	494.	13.	R 55 Bl 6	+	-	-	-	+	-	+	-	-
458.	13.	R 55 Bl 11	+	-	-	-	+	-	+	-	-	495.	13.	R 55 Bl 3	+	-	-	-	+	-	+	-	-
459.	13.	R 56 Bl 6	-	-	-	-	+	-	-	-	-	496.	13.	R 56 Bl 9	-	-	-	-	+	-	-	-	-
460.	13.	R 59 Bl 6	+	-	-	-	+	-	-	-	-	497.	13.	R 58 Bl 10	+	-	-	-	+	-	+	-	-
461.	13.	R 58 Bl 7	+	-	-	-	+	-	-	-	-	498.	13.	R 56 Bl 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-
462.	13.	R 59 Bl 8	+	-	-	-	+	-	+	-	-	499.	13.	R 56 Bl 12	-	-	-	-	+	-	+	-	-
463.	13.	R 58 Bl 11	+	-	-	-	+	-	+	-	-	500.	13.	R 56 Bl 8	-	-	-	-	+	-	+	-	-
464.	13.	R 59 Bl 13	+	-	-	-	+	-	+	-	-	501.	13.	R 56 Bl 7	-	-	-	-	+	-	-	-	-
465.	13.	R 59 Bl 2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	502.	13.	R 56 Bl 10	+	-	-	-	+	-	-	-	-
466.	13.	R 58 Bl 1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	503.	13.	R 55 Bl 14	-	-	-	-	+	-	-	-	-
467.	13.	R 58 Bl 2	+	-	-	-	+	-	-	-	-	504.	13.	R 55 Bl 13	-	-	-	-	+	-	-	-	-
468.	13.	R 59 Bl 4	+	-	-	-	+	-	+	-	-	505.	13.	R 55 Bl 1	-	-	-	-	+	-	-	-	-
469.	13.	R 59 Bl 5	-	-	-	-	+	-	-	-	-	506.	13.	R 11 T 16	-	-	+	-	-	-	+	-	-
470.	13.	R 59 Bl 11	-	-	+	-	+	-	-	-	-	507.	13.	R 11 T 19	+	-	-	-	+	-	-	-	-
471.	13.	R 59 Bl 9	+	-	+	-	+	-	+	-	-	508.	13.	R 11 T 22	+	-	+	-	-	-	-	-	-
472.	13.	R 59 Bl 1	-	-	-	-	+	+	-	-	-	509.	13.	R 11 T 10	-	-	-	-	+	-	+	-	-
473.	13.	R 61 Bl 2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	510.	13.	R 11 T 21	+	-	-	-	+	-	-	-	-

## nastavak Tablice 28.

Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GFkV	GVA	GVB	Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GFkV	GVA	GVB
511.	13.	R 11 T 24	-	-	+	-	-	+	+	-	-	548.	13.	R 8 T 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
512.	13.	R 11 T 13	-	-	-	-	+	-	-	-	-	549.	13.	R 9 T 17	+	-	+	-	-	-	-	-	-
513.	13.	R 11 T 6	+	-	-	-	-	-	-	-	-	550.	13.	R 9 T 6	-	-	+	-	-	-	-	-	-
514.	13.	R 11 T 3	-	-	+	-	+	+	-	-	-	551.	13.	R 8 T 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
515.	13.	R 11 T 4	+	-	-	-	+	-	-	-	-	552.	13.	R 8 T 2	+	-	-	-	-	-	-	-	-
516.	13.	R 11 T 9	+	-	-	-	-	-	+	-	-	553.	13.	R 10 T 14	+	-	+	-	-	-	-	-	-
517.	13.	R 11 T 8	+	-	-	-	-	-	-	-	-	554.	13.	R 8 T 4	+	-	-	-	-	+	+	-	-
518.	13.	R 10 T 21	-	-	-	-	+	-	+	-	-	555.	13.	R 8 T 9	+	-	-	-	-	-	-	-	-
519.	13.	R 10 T 19	+	-	-	-	-	-	-	-	-	556.	13.	R 3 Ž 12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
520.	13.	R 10 T 16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	557.	13.	R 2 Ž 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-
521.	13.	R 10 T 25	-	-	-	-	+	-	-	-	-	558.	13.	R 4 Ž 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-
522.	13.	R 10 T 17	+	-	-	-	-	-	-	-	-	559.	13.	R 4 Ž 7	-	-	-	-	+	-	-	-	-
523.	13.	R 10 T 20	-	-	+	-	-	-	-	-	-	560.	13.	R 2 Ž 1	-	-	-	-	+	-	-	-	-
524.	13.	R 10 T 12	-	-	+	-	-	-	-	-	-	561.	13.	R 2 Ž 2	-	-	-	-	+	-	-	-	-
525.	13.	R 10 T 24	-	-	-	-	+	-	+	-	-	562.	13.	R 2 Ž 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
526.	13.	R 10 T 22	-	-	+	-	-	-	+	-	-	563.	13.	R 3 Ž 8	-	-	-	-	+	-	-	-	-
527.	13.	R 10 T 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	564.	13.	R 3 Ž 7	-	-	-	-	+	-	-	-	-
528.	13.	R 10 T 7	-	-	+	-	-	-	-	-	-	565.	13.	R 3 Ž 6	-	-	-	-	+	-	-	-	-
529.	13.	R 10 T 6	+	-	-	-	-	-	-	-	-	566.	13.	R 3 Ž 9	-	-	-	-	+	-	-	-	-
530.	13.	R 10 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	567.	13.	R 5 Ž 17	+	-	-	-	-	-	-	-	-
531.	13.	R 9 T 5	-	-	-	-	+	-	-	-	-	568.	13.	R 5 Ž 15	-	-	-	-	+	-	-	-	-
532.	13.	R 10 T 10	-	-	+	-	+	-	+	-	-	569.	13.	R 5 Ž 14	-	-	-	-	+	-	-	-	-
533.	13.	R 9 T 11	-	-	+	-	-	+	-	-	-	570.	13.	R 4 Ž 6	-	-	-	-	+	-	-	-	-
534.	13.	R 9 T 16	-	-	+	-	-	+	-	-	-	571.	13.	R 4 Ž 5	-	-	-	-	+	+	-	-	-
535.	13.	R 9 T 14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	572.	13.	R 4 Ž 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-
536.	13.	R 10 T 4	+	-	-	-	+	-	-	-	-	573.	13.	R 9 Ž 16	-	-	-	-	+	-	-	-	-
537.	13.	R 10 T 15	-	-	-	-	+	-	+	-	-	574.	13.	R 6 Ž 23	-	-	-	-	-	-	-	-	-
538.	13.	R 10 T 13	+	-	+	-	-	-	-	-	-	575.	13.	R 6 Ž 25	-	-	-	-	+	-	-	-	-
539.	13.	R 9 T 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	576.	13.	R 6 Ž 22	-	-	-	-	+	-	-	-	-
540.	13.	R 9 T 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	577.	13.	R 6 Ž 24	-	-	-	-	+	-	-	-	-
541.	13.	R 9 T 18	-	-	-	-	-	-	+	-	-	578.	13.	R 9 Ž 18	-	-	-	-	+	-	-	-	-
542.	13.	R 8 T 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	579.	13.	R 9 Ž 22	-	-	-	-	+	-	-	-	-
543.	13.	R 9 T 15	+	-	-	-	-	-	+	-	-	580.	13.	R 8 Ž 21	-	-	-	-	+	-	-	-	-
544.	13.	R 8 T 8	-	-	-	-	+	-	-	-	-	581.	13.	R 8 Ž 18	-	-	-	-	+	-	-	-	-
545.	13.	R 8 T 10	-	-	-	-	-	-	+	-	-	582.	13.	R 6 Ž 26	-	-	-	-	+	-	-	-	-
546.	13.	R 8 T 6	-	-	-	-	+	-	-	-	-	583.	13.	R 7 Ž 4	-	-	-	-	+	-	+	-	-
547.	13.	R 8 T 7	+	-	-	-	-	-	+	-	-	584.	13.	R 9 Ž 21	-	-	+	-	+	-	-	-	-



nastavak Tablice 28.

Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GfKv	GVA	GVB	Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GfKv	GVA	GVB
585.	13.	R 7 Ž 5	-	-	-	-	+	-	-	-	-	625.	14.	1 R 2 Ž 13	-	-	-	-	+	-	-	-	-
586.	13.	R 7 Ž 9	-	-	-	-	+	-	-	-	-	626.	14.	T 1 R 14 Ž 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-
587.	13.	R 7 Ž 6	-	-	-	-	+	-	-	-	-	627.	14.	T 1 R 14 Ž 9	-	-	-	-	+	-	-	-	-
588.	13.	R 7 Ž 7	-	-	-	-	+	+	-	-	-	628.	14.	T 1 R 14 Ž 6	-	-	-	-	+	-	-	-	-
589.	13.	R 11 Ž 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-	629.	14.	T 1 R 14 Ž 10	-	-	-	-	+	-	-	-	-
590.	13.	R 10 Ž 11	-	-	-	-	+	-	-	-	-	630.	14.	T 1 R 14 Ž 11	-	-	-	-	+	-	-	-	-
591.	13.	R 10 Ž 14	-	-	-	-	+	-	-	-	-	631.	14.	T 1 R 14 Ž 8	-	-	-	-	+	-	-	-	-
592.	13.	R 10 Ž 10	-	-	-	-	-	+	-	-	-	632.	14.	T 1 R 14 Ž 5	-	-	-	-	+	-	-	-	-
593.	13.	R 8 Ž 23	-	-	-	-	+	-	-	-	-	633.	14.	T 1 R 14 Ž 12	-	-	-	-	+	-	-	-	-
594.	13.	R 10 Ž 16	-	-	-	-	+	-	-	-	-	634.	14.	T 1 R 19 Ž 6	-	-	-	-	+	-	-	-	-
595.	13.	R 11 Ž 2	-	-	-	-	+	-	+	-	-	635.	14.	T 1 R 19 Ž 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-
596.	13.	R 8 Ž 19	-	-	-	-	+	-	-	-	-	636.	14.	T 1 R 19 Ž 5	-	-	-	-	+	-	-	-	-
597.	13.	R 8 Ž 20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	637.	14.	T 1 R 19 Ž 11	-	-	-	-	+	-	-	-	-
598.	13.	R 9 Ž 20	-	-	-	-	+	-	-	-	-	638.	14.	T 1 R 1 Ž 8	+	-	-	-	-	-	-	-	-
599.	13.	R 11 Ž 6	-	-	-	-	+	-	-	-	-	639.	14.	T 1 R 19 Ž 13	-	-	-	-	+	-	-	-	-
600.	14.	T 2 R 18 Bl 1	-	-	+	-	-	-	-	-	-	640.	14.	T 1 R 19 Ž 9	-	-	-	-	+	-	-	-	-
601.	14.	T 1 R 2 Bl 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	641.	14.	T 1 R 19 Ž 7	-	-	-	-	+	-	-	-	-
602.	14.	T 1 R 15 Bl 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	642.	14.	T 3 R 2 Ž 22	-	-	+	-	+	-	+	-	-
603.	14.	T 2 R 21 Bl 36	+	-	-	-	+	-	-	-	-	643.	14.	T 3 R 4 Ž 1	-	-	-	-	+	+	+	-	-
604.	14.	T 2 R 24 Bl 12	+	-	-	-	+	-	-	-	-	644.	14.	T 3 R 4 Ž 4	-	-	+	-	+	-	-	-	-
605.	14.	T 2 R 21 Bl 93	+	-	-	-	+	-	-	-	-	645.	14.	T 3 R 4 Ž 6	-	-	-	-	+	-	-	-	-
606.	14.	T 2 R 24 Bl 100	+	-	-	-	+	-	-	-	-	646.	14.	T 3 R 4 Ž 9	-	-	-	-	+	-	-	-	-
607.	14.	T 2 R 24 Bl 70	+	-	-	-	+	-	-	-	-	647.	14.	T 3 R 2 Ž 21	+	-	+	-	+	-	-	-	-
608.	14.	T 2 R 21 Bl 11	-	-	+	-	-	-	-	-	-	648.	14.	T 3 R 4 Ž 8	-	-	-	-	+	-	-	-	-
609.	14.	T 2 R 21 Bl 14	+	-	-	-	+	-	-	-	-	649.	14.	T 3 R 4 Ž 7	-	-	-	-	+	-	-	-	-
610.	14.	T 2 R 21 Bl 36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	650.	14.	T 3 R 4 Ž 2	-	-	+	-	+	-	-	-	-
611.	14.	T 2 R 21 Bl 30	+	-	-	-	+	-	-	-	-	651.	14.	T 3 R 4 Ž 5	-	-	+	-	+	-	-	-	-
612.	14.	T 2 R 21 Bl 10	+	-	-	-	+	-	-	-	-	652.	14.	T 3 R 2 Ž 19	-	-	-	-	+	-	-	-	-
613.	14.	T 2 R 24 Bl 50	+	-	-	-	+	-	-	-	-	653.	14.	T 3 R 2 Ž 9	-	-	-	-	+	-	-	-	-
614.	14.	T 2 R 24 Bl 108	+	-	+	-	+	-	-	-	-	654.	14.	T 3 R 2 Ž 15	-	-	+	-	+	-	+	-	-
615.	14.	T 1 R 2 Bl 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	655.	14.	T 3 R 2 Ž 11	-	-	-	-	+	-	-	-	-
616.	14.	T 2 R 21 Bl 7	+	-	+	-	+	-	-	-	-	656.	14.	T 3 R 2 Ž 12	-	-	-	-	+	-	-	-	-
617.	14.	T 2 R 39 Bl 52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	657.	14.	T 3 R 2 Ž 10	-	-	+	-	+	-	-	-	-
618.	14.	T 2 R 18 Bl 1	-	-	+	-	-	-	-	-	-	658.	14.	T 3 R 2 Ž 16	-	-	-	-	+	-	-	-	-
619.	14.	T 1 R 2 Ž 5	-	-	-	-	+	-	-	-	-	659.	14.	T 3 R 2 Ž 18	-	-	+	-	+	-	+	-	-
620.	14.	T 1 R 2 Ž 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	660.	14.	T 3 R 2 Ž 13	-	-	-	-	+	-	-	-	-
621.	14.	T 1 R 2 Ž 8	-	-	-	-	+	-	-	-	-	661.	14.	T 3 R 2 Ž 17	-	-	-	-	+	-	+	-	-
622.	14.	T 1 R 2 Ž 9	-	-	-	-	+	-	-	-	-	662.	14.	T 3 R 2 Ž 20	-	-	-	-	+	-	-	-	-
623.	14.	T 1 R 2 Ž 10	-	-	-	-	+	-	-	-	-	663.	14.	T 3 R 2 Ž 6	-	-	-	-	+	-	-	-	-
624.	14.	T 1 R 2 Ž 12	-	-	-	-	+	-	-	-	-	664.	14.	T 3 R 2 Ž 4	-	-	+	-	+	-	-	-	-

nastavak Tablice 28.

Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GFKV	GVA	GVB	Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GFKV	GVA	GVB
665.	14.	T 3 R 2 Ž 8	-	-	+	-	+	-	-	-	-	707.	14.	T 3 R 9 Bl 28	-	-	-	-	-	-	-	-	-
666.	14.	T 3 R 2 Ž 1	-	-	-	-	+	-	+	-	-	708.	14.	T 3 R 9 Bl 25	-	-	-	-	+	-	+	-	-
667.	14.	T 3 R 2 Ž 2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	709.	14.	T 3 R 9 Bl 22	-	-	-	-	-	-	+	-	-
668.	14.	T 3 R 2 Ž 7	-	-	+	-	-	-	-	-	-	710.	14.	T 3 R 7 Ž 32	+	-	-	-	+	-	-	-	-
669.	14.	T 3 R 2 Ž 3	+	-	-	-	+	-	-	-	-	711.	14.	T 3 R 7 Ž 17	+	-	-	-	-	-	-	-	-
670.	14.	T 3 R 12 Bl 12	-	-	+	-	+	-	-	-	-	712.	14.	T 3 R 7 Ž 22	+	-	-	-	+	-	-	-	-
671.	14.	T 3 R 12 Bl 14	+	-	+	-	+	-	-	-	-	713.	14.	T 3 R 7 Ž 31	+	-	-	-	+	-	-	-	-
672.	14.	T 3 R 12 Bl 3	+	-	-	-	+	-	-	-	-	714.	14.	T 3 R 7 Ž 33	+	-	-	-	+	-	-	-	-
673.	14.	T 3 R 12 Bl 22	+	-	+	-	+	-	-	-	-	715.	14.	T 3 R 7 Ž 25	+	-	-	-	+	-	-	-	-
674.	14.	T 3 R 12 Bl 24	-	-	-	-	+	-	+	-	-	716.	14.	T 3 R 7 Ž 30	+	-	-	-	+	-	-	-	-
675.	14.	T 3 R 12 Bl 11	-	-	-	-	+	-	-	-	-	717.	14.	T 3 R 7 Ž 27	+	-	-	-	+	-	-	-	-
676.	14.	T 3 R 12 Bl 10	-	-	-	-	+	-	+	-	-	718.	14.	T 3 R 7 Ž 24	+	-	-	-	-	-	-	-	-
677.	14.	T 3 R 12 Bl 5	+	-	-	-	-	-	-	-	-	719.	14.	T 3 R 7 Ž 23	+	-	-	-	+	-	-	-	-
678.	14.	T 3 R 12 Bl 26	-	-	-	-	-	-	+	-	-	720.	14.	T 3 R 7 Ž 19	+	-	-	-	+	-	-	-	-
679.	14.	T 3 R 12 Bl 25	-	-	-	-	+	-	+	-	-	721.	14.	T 3 R 7 Ž 20	+	-	+	-	+	-	-	-	-
680.	14.	T 3 R 12 Bl 17	+	-	-	-	+	-	-	-	-	722.	14.	T 3 R 7 Ž 16	-	-	-	-	+	-	-	-	-
681.	14.	T 3 R 9 Bl 3	-	-	-	-	+	-	+	-	-	723.	14.	T 3 R 7 Ž 15	+	-	-	-	+	-	-	-	-
682.	14.	T 3 R 12 Bl 2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	724.	14.	T 3 R 7 Ž 14	+	-	-	-	+	-	-	-	-
683.	14.	T 3 R 9 Bl 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	725.	14.	T 3 R 7 Ž 13	+	-	-	-	+	-	-	-	-
684.	14.	T 3 R 12 Bl 1	+	-	-	-	+	-	-	-	-	726.	14.	T 3 R 7 Ž 11	+	-	-	-	+	-	-	-	-
685.	14.	T 3 R 9 Bl 8	+	-	-	-	+	-	-	-	-	727.	14.	T 3 R 7 Ž 10	+	-	-	-	+	-	-	-	-
686.	14.	T 3 R 9 Bl 2	-	-	-	-	+	-	+	-	-	728.	14.	T 3 R 7 Ž 9	+	-	-	-	+	-	-	-	-
687.	14.	T 3 R 9 Bl 7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	729.	14.	T 3 R 7 Ž 7	-	-	-	-	+	-	-	-	-
688.	14.	T 3 R 12 Bl 21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	730.	14.	T 3 R 7 Ž 6	+	-	-	-	+	+	+	-	-
689.	14.	T 3 R 12 Bl 20	-	-	-	-	+	-	+	-	-	731.	14.	T 3 R 7 Ž 5	+	-	-	-	+	-	-	-	-
690.	14.	T 3 R 12 Bl 4	-	-	-	-	+	-	+	-	-	732.	14.	T 3 R 7 Ž 3	+	-	-	-	+	-	-	-	-
691.	14.	T 3 R 12 Bl 13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	733.	14.	T 3 R 7 Ž 2	+	-	-	-	+	-	-	-	-
692.	14.	T 3 R 12 Bl 16	-	-	+	-	-	-	-	-	-	734.	14.	T 3 R 7 Ž 1	+	-	-	-	+	-	-	-	-
693.	14.	T 3 R 9 Bl 11	-	-	-	-	+	-	-	-	-	735.	14.	T 3 R 7 Ž 4	+	-	-	-	+	-	-	-	-
694.	14.	T 3 R 9 Bl 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	736.	14.	T 3 R 1 Ž 27	-	-	-	-	-	-	+	-	-
695.	14.	T 3 R 9 Bl 15	-	-	-	-	+	-	-	-	-	737.	14.	T 3 R 1 Ž 20	-	-	-	-	+	-	-	-	-
696.	14.	T 3 R 9 Bl 14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	738.	14.	T 3 R 1 Ž 24	-	-	-	-	+	-	+	-	-
697.	14.	T 3 R 9 Bl 16	+	-	-	-	-	-	-	-	-	739.	14.	T 3 R 1 Ž 26	-	-	-	-	+	-	-	-	-
698.	14.	T 3 R 12 Bl 8	-	-	-	-	+	-	-	-	-	740.	14.	T 3 R 1 Ž 25	-	-	-	-	+	-	-	-	-
699.	14.	T 3 R 12 Bl 7	-	-	-	-	+	-	-	-	-	741.	14.	T 3 R 1 Ž 18	-	-	-	-	+	-	-	-	-
700.	14.	T 3 R 9 Bl 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	742.	14.	T 3 R 1 Ž 17	+	-	-	-	+	-	-	-	-
701.	14.	T 3 R 9 Bl 17	-	-	-	-	-	+	-	-	-	743.	14.	T 3 R 1 Ž 10	+	-	+	-	+	-	-	-	-
702.	14.	T 3 R 9 Bl 23	-	-	+	-	+	-	-	-	-	744.	14.	T 3 R 1 Ž 21	-	-	-	-	+	-	-	-	-
703.	14.	T 3 R 9 Bl 19	+	-	-	-	+	-	+	-	-	745.	14.	T 3 R 1 Ž 15	-	-	-	-	+	-	-	-	-
704.	14.	T 3 R 9 Bl 27	-	-	-	-	+	-	-	-	-	746.	14.	T 3 R 1 Ž 11	-	-	-	-	+	-	-	-	-
705.	14.	T 3 R 9 Bl 12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	747.	14.	T 3 R 1 Ž 8	+	-	-	-	-	-	-	-	-
706.	14.	T 3 R 9 Bl 29	-	-	-	-	+	-	-	-	-	748.	14.	T 3 R 1 Ž 9	-	-	-	-	+	-	-	-	-

nastavak Tablice 28.

Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GFKV	GVA	GVB	Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GFKV	GVA	GVB
749.	14.	T 3 R 1 Ž 14	-	-	-	-	+	-	-	-	-	791.	14.	T 3 R 6 Bl 22	-	-	-	-	+	-	-	-	-
750.	14.	T 3 R 1 Ž 7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	792.	14.	T 3 R 6 Bl 27	+	-	-	-	-	-	-	-	-
751.	14.	T 2 R 4 Ž 23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	793.	14.	T 3 R 6 Bl 28	-	-	-	-	+	-	-	-	-
752.	14.	T 3 R 1 Ž 23	+	-	-	-	-	-	-	-	-	794.	14.	T 3 R 6 Bl 29	-	-	-	-	-	-	-	-	-
753.	14.	T 3 R 1 Ž 4	+	-	-	-	+	-	-	-	-	795.	14.	T 3 R 3 Bl 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
754.	14.	T 3 R 1 Ž 5	-	-	-	-	+	-	-	-	-	796.	14.	T 3 R 3 Bl 5	+	-	+	-	-	-	+	-	-
755.	14.	T 3 R 1 Ž 13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	797.	14.	T 3 R 3 Bl 11	-	-	-	-	+	-	-	-	-
756.	14.	T 3 R 1 Ž 2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	798.	14.	T 3 R 6 Bl 13	-	-	-	-	+	-	-	-	-
757.	14.	T 3 R 1 Ž 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	799.	14.	T 3 R 6 Bl 24	-	-	-	-	-	-	-	-	-
758.	14.	T 3 R 1 Ž 1	-	-	+	-	+	+	-	-	-	800.	14.	T 3 R 6 Bl 30	+	-	-	-	-	-	-	-	-
759.	14.	T 2 R 4 Ž 26	-	-	-	-	+	+	-	-	-	801.	14.	T 3 R 3 Bl 16	-	-	-	-	+	-	-	-	-
760.	14.	T 2 R 4 Ž 19	-	-	-	-	+	-	-	-	-	802.	14.	T 3 R 3 Bl 6	-	-	-	-	+	-	-	-	-
761.	14.	T 2 R 4 Ž 14	-	-	-	-	+	-	-	-	-	803.	14.	T 3 R 3 Bl 7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
762.	14.	T 2 R 4 Ž 2	+	-	-	-	+	-	-	-	-	804.	14.	T 3 R 3 Bl 13	-	-	-	-	-	-	-	-	-
763.	14.	T 2 R 4 Ž 17	+	-	-	-	-	-	-	-	-	805.	14.	T 3 R 3 Bl 15	-	-	-	-	+	-	-	-	-
764.	14.	T 2 R 4 Ž 16	-	-	-	-	+	-	-	-	-	806.	14.	T 3 R 3 Bl 2	-	-	+	-	+	-	-	-	-
765.	14.	T 2 R 4 Ž 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-	807.	14.	T 3 R 3 Bl 19	-	-	-	-	-	-	-	-	-
766.	14.	T 2 R 4 Ž 5	-	-	-	-	+	-	-	-	-	808.	14.	T 3 R 3 Bl 18	+	-	-	-	-	-	-	-	-
767.	14.	T 2 R 4 Ž 20	-	-	-	-	+	-	-	-	-	809.	14.	T 3 R 3 Bl 20	-	-	-	-	+	-	-	-	-
768.	14.	T 2 R 4 Ž 21	-	-	-	-	+	-	-	-	-	810.	14.	T 3 R 3 Bl 22	-	-	-	-	+	-	-	-	-
769.	14.	T 2 R 4 Ž 18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	811.	14.	T 3 R 3 Bl 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
770.	14.	T 2 R 4 Ž 1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	812.	14.	T 3 R 3 Bl 25	-	-	-	-	+	-	-	-	-
771.	14.	T 2 R 4 Ž 25	-	-	-	-	+	-	-	-	-	813.	14.	T 3 R 3 Bl 8	+	-	-	-	-	-	-	-	-
772.	14.	T 2 R 4 Ž 22	+	-	-	-	+	-	+	-	-	814.	14.	T 3 R 3 Bl 12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
773.	14.	T 2 R 4 Ž 15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	815.	14.	T 3 R 3 Bl 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
774.	14.	T 2 R 4 Ž 24	-	-	-	-	+	-	-	-	-	816.	14.	T 2 R 2 Ž 15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
775.	14.	T 2 R 4 Ž 8	+	-	+	-	+	-	+	-	-	817.	14.	T 2 R 2 Ž 14	-	-	+	-	+	-	-	-	-
776.	14.	T 2 R 4 Ž 27	+	-	-	-	-	-	-	-	-	818.	14.	T 2 R 2 Ž 17	-	-	-	-	-	-	-	-	-
777.	14.	T 2 R 4 Ž 7	+	-	-	-	-	-	-	-	-	819.	14.	T 2 R 2 Ž 13	-	-	-	-	-	-	-	-	-
778.	14.	T 3 R 6 Bl 4	+	-	+	-	+	-	-	-	-	820.	14.	T 2 R 2 Ž 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
779.	14.	T 3 R 6 Bl 14	-	-	-	-	+	-	-	-	-	821.	14.	T 2 R 2 Ž 12	-	-	-	-	+	-	-	-	-
780.	14.	T 3 R 6 Bl 7	-	-	+	-	-	-	-	-	-	822.	14.	T 2 R 2 Ž 18	-	-	-	-	-	-	-	-	-
781.	14.	T 3 R 6 Bl 18	-	-	-	-	+	-	-	-	-	823.	14.	T 2 R 2 Ž 16	-	-	-	-	-	-	-	-	-
782.	14.	T 3 R 6 Bl 9	-	-	-	-	+	-	-	-	-	824.	14.	T 2 R 2 Ž 8	-	-	-	-	+	-	+	-	-
783.	14.	T 3 R 6 Bl 21	-	-	-	-	+	-	-	-	-	825.	14.	T 2 R 2 Ž 21	-	-	-	-	-	-	-	-	-
784.	14.	T 3 R 6 Bl 5	-	-	-	-	+	-	-	-	-	826.	14.	T 2 R 1 Ž 8	-	-	-	-	+	-	-	-	-
785.	14.	T 3 R 6 Bl 10	+	-	-	-	-	-	-	-	-	827.	14.	T 2 R 2 Ž 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-
786.	14.	T 3 R 6 Bl 3	-	-	-	-	+	-	+	-	-	828.	14.	T 2 R 2 Ž 1	-	-	-	-	-	+	-	-	-
787.	14.	T 3 R 6 Bl 20	-	-	+	-	+	-	-	-	-	829.	14.	T 2 R 2 Ž 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
788.	14.	T 3 R 6 Bl 23	+	-	-	-	+	-	+	-	-	830.	14.	T 2 R 2 Ž 2	-	-	-	-	-	-	+	-	-
789.	14.	T 3 R 6 Bl 26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	831.	14.	T 2 R 2 Ž 7	-	-	+	-	-	-	-	-	-
790.	14.	T 3 R 6 Bl 8	-	-	-	-	-	-	+	-	-	832.	14.	T 2 R 1 Ž 11	+	-	+	-	+	-	-	-	-

nastavak Tablice 28.

Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GfKv	GVA	GVB	Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GfKv	GVA	GVB
833.	14.	T 2 R 1 Ž 7	-	-	-	-	+	-	-	-	-	875.	14.	T R 24 Bl 19	-	-	-	-	+	-	+	-	-
834.	14.	T 2 R 1 Ž 2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	876.	14.	T R 24 Bl 24	+	-	-	-	-	-	-	-	-
835.	14.	T 2 R 1 Ž 3	-	-	-	-	+	-	+	-	-	877.	14.	T R 24 Bl 14	+	-	-	-	+	-	-	-	-
836.	14.	T 2 R 1 Ž 10	-	-	-	-	+	-	-	-	-	878.	14.	T R 24 Bl 12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
837.	14.	T 2 R 1 Ž 6	-	-	-	-	+	-	-	-	-	879.	14.	T R 24 Bl 22	+	-	-	-	+	-	-	-	-
838.	14.	T 2 R 1 Ž 9	-	-	+	-	+	-	-	-	-	880.	14.	T R 24 Bl 13	-	-	-	-	-	+	-	-	-
839.	14.	T 2 R 2 Ž 23	-	-	-	-	+	-	-	-	-	881.	14.	T R 24 Bl 21	+	-	-	-	-	-	-	-	-
840.	14.	T 2 R 1 Ž 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-	882.	14.	T R 24 Bl 3	-	-	+	-	-	-	-	-	-
841.	14.	T 2 R 2 Ž 9	-	-	-	-	+	-	-	-	-	883.	14.	T R 24 Bl 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
842.	14.	T 2 R 2 Ž 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-	884.	14.	T R 24 Bl 8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
843.	14.	T 2 R 1 Ž 1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	885.	14.	T R 24 Bl 2	+	-	-	-	+	-	+	-	-
844.	14.	T 2 R 1 Ž 5	-	-	-	-	+	-	-	-	-	886.	14.	T R 24 Bl 11	+	-	-	-	-	-	-	-	-
845.	14.	T 2 R 2 Ž 20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	887.	14.	T R 24 Bl 6	+	-	-	-	+	-	-	-	-
846.	14.	T 3 R 15 Bl 14	-	-	+	-	+	-	-	-	-	888.	14.	T R 24 Bl 9	+	-	-	-	+	-	-	-	-
847.	14.	T 3 R 15 Bl 10	+	-	-	-	+	-	-	-	-	889.	14.	T R 24 Bl 7	-	-	-	-	+	-	-	-	-
848.	14.	T 3 R 15 Bl 25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	890.	14.	T R 24 Bl 10	-	-	+	-	+	-	-	-	-
849.	14.	T 3 R 15 Bl 15	-	-	-	-	+	-	-	-	-	891.	14.	T R 24 Bl 20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
850.	14.	T 3 R 15 Bl 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	892.	14.	T R 24 Bl 16	-	-	-	-	-	-	-	-	-
851.	14.	T 3 R 15 Bl 26	+	-	-	-	+	-	-	-	-	893.	14.	T R 24 Bl 41	+	-	+	-	+	-	-	-	-
852.	14.	T 3 R 15 Bl 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	894.	14.	T R 24 Bl 35	+	-	-	-	+	+	-	-	-
853.	14.	T 3 R 15 Bl 13	-	-	-	-	+	-	-	-	-	895.	14.	T R 24 Bl 37	-	-	-	-	-	-	-	-	-
854.	14.	T 3 R 15 Bl 29	-	-	-	-	+	-	-	-	-	896.	14.	T R 24 Bl 38	+	-	-	-	+	-	-	-	-
855.	14.	T 3 R 15 Bl 8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	897.	14.	T R 24 Bl 51	+	-	-	-	+	-	-	-	-
856.	14.	T 3 R 15 Bl 6	-	-	-	-	+	-	-	-	-	898.	14.	T R 24 Bl 40	-	-	-	-	+	+	-	-	-
857.	14.	T 3 R 15 Bl 30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	899.	14.	T R 24 Bl 46	+	-	-	-	+	-	-	-	-
858.	14.	T 3 R 15 Bl 42	-	-	-	-	+	-	-	-	-	900.	14.	T R 24 Bl 49	+	-	-	-	-	-	-	-	-
859.	14.	T 3 R 15 Bl 34	-	-	-	-	+	-	-	-	-	901.	14.	T R 24 Bl 39	+	-	-	-	-	-	+	-	-
860.	14.	T 3 R 15 Bl 36	-	-	-	-	+	-	-	-	-	902.	14.	T R 24 Bl 50	+	-	-	-	+	-	-	-	-
861.	14.	T 3 R 15 Bl 31	-	-	-	-	+	-	-	-	-	903.	14.	T R 24 Bl 44	+	-	-	-	+	-	-	-	-
862.	14.	T 3 R 15 Bl 33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	904.	14.	T R 24 Bl 52	-	-	-	-	-	-	-	-	-
863.	14.	T 3 R 15 Bl 32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	905.	14.	T R 24 Bl 48	+	-	-	-	+	-	-	-	-
864.	14.	T 3 R 15 Bl 40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	906.	14.	T R 24 Bl 45	+	-	-	-	+	-	+	-	-
865.	14.	T 3 R 15 Bl 21	-	-	-	-	-	-	+	-	-	907.	14.	T R 24 Bl 15	+	-	-	-	+	-	-	-	-
866.	14.	T 3 R 15 Bl 41	-	-	+	-	+	-	-	-	-	908.	14.	T R 24 Bl 32	+	-	-	-	+	-	+	-	-
867.	14.	T 3 R 15 Bl 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-	909.	14.	T R 24 Bl 29	-	-	-	-	+	-	+	-	-
868.	14.	T R 24 Bl 36	-	-	-	-	+	-	-	-	-	910.	14.	T R 24 Bl 26	+	-	-	-	-	-	-	-	-
869.	14.	T R 24 Bl 27	+	-	-	-	-	-	+	-	-	911.	14.	T R 24 Bl 18	+	-	-	-	-	-	-	-	-
870.	14.	T R 24 Bl 31	+	-	-	-	+	-	-	-	-	912.	14.	T R 24 Bl 17	-	-	-	-	-	-	-	-	-
871.	14.	T R 24 Bl 30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	913.	15.	T 4 R 5 T 1	-	-	+	-	-	+	+	-	-
872.	14.	T R 24 Bl 28	+	-	-	-	-	-	+	-	-	914.	15.	T 4 R 5 T 2	-	-	-	-	+	+	-	-	-
873.	14.	T R 24 Bl 25	-	-	-	-	+	-	-	-	-	915.	15.	T 4 R 5 T 3	-	-	+	-	+	-	-	-	-
874.	14.	T R 24 Bl 23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	916.	15.	T 4 R 5 T 4	-	-	+	-	+	-	-	-	-

## nastavak Tablice 28.

Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GFkV	GVA	GVB	Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GFkV	GVA	GVB
917.	15.	T 4 R 5 T 5	+	-	-	-	+	-	-	-	-	959.	15.	T 4 R 5 T 54	-	-	-	-	-	-	-	-	-
918.	15.	T 4 R 5 T 6	-	-	+	-	+	-	-	-	-	960.	15.	T 4 R 5 T 55	-	-	-	-	-	-	-	-	-
919.	15.	T 4 R 5 T 7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	961.	15.	T 4 R 5 T 56	+	-	-	-	+	+	-	-	-
920.	15.	T 4 R 5 T 8	+	-	-	-	-	-	-	-	-	962.	15.	T 4 R 11 T 29	-	-	-	-	-	-	-	-	-
921.	15.	T 4 R 5 T 9	-	-	+	-	-	-	-	-	-	963.	15.	T 4 R 11 T 30	-	-	-	-	+	-	-	-	-
922.	15.	T 4 R 5 T 10	-	-	-	-	+	-	-	-	-	964.	15.	T 4 R 11 T 42	-	-	+	-	-	-	-	-	-
923.	15.	T 4 R 5 T 11	-	-	-	-	-	+	+	-	-	965.	15.	T 4 R 11 T 53	+	-	-	-	-	-	-	-	-
924.	15.	T 4 R 5 T 12	-	-	+	-	-	+	-	-	-	966.	15.	T 4 R 11 T 46	-	-	-	-	+	+	-	-	-
925.	15.	T 4 R 5 T 14	-	-	+	-	-	-	-	-	-	967.	15.	T 4 R 11 T 51	+	-	-	-	-	-	-	-	-
926.	15.	T 4 R 5 T 15	+	-	-	-	-	-	-	-	-	968.	15.	T 4 R 11 T 43	+	-	-	-	+	-	-	-	-
927.	15.	T 4 R 5 T 16	-	-	+	-	-	-	-	-	-	969.	15.	T 4 R 11 T 37	-	-	+	-	-	-	+	-	-
928.	15.	T 4 R 5 T 17	-	-	-	-	+	+	-	-	-	970.	15.	T 4 R 11 T 31	-	-	-	-	+	-	-	-	-
929.	15.	T 4 R 5 T 18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	971.	15.	T 4 R 11 T 39	-	-	-	-	+	-	-	-	-
930.	15.	T 4 R 5 T 19	-	-	+	-	+	-	-	-	-	972.	15.	T 4 R 11 T 47	+	-	-	-	-	-	-	-	-
931.	15.	T 4 R 5 T 20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	973.	15.	T 4 R 11 T 54	-	-	-	-	+	-	+	-	-
932.	15.	T 4 R 5 T 21	+	-	-	-	+	-	-	-	-	974.	15.	T 4 R 11 T 36	-	-	-	-	+	-	-	-	-
933.	15.	T 4 R 5 T 24	-	-	+	-	+	-	-	-	-	975.	15.	T 4 R 11 T 28	-	-	+	-	+	-	-	-	-
934.	15.	T 4 R 5 T 25	-	-	+	-	-	+	+	-	-	976.	15.	T 4 R 11 T 23	-	-	+	-	+	-	+	-	-
935.	15.	T 4 R 5 T 26	+	-	-	-	-	+	+	-	-	977.	15.	T 4 R 11 T 50	+	-	-	-	+	-	+	-	-
936.	15.	T 4 R 5 T 27	+	-	-	-	+	-	-	-	-	978.	15.	T 4 R 11 T 44	-	-	+	-	+	-	-	-	-
937.	15.	T 4 R 5 T 28	-	-	-	-	+	+	-	-	-	979.	15.	T 4 R 11 T 21	-	-	-	-	-	-	-	-	-
938.	15.	T 4 R 5 T 29	+	-	-	-	+	+	-	-	-	980.	15.	T 4 R 11 T 33	-	-	-	-	-	-	-	-	-
939.	15.	T 4 R 5 T 30	-	-	+	-	+	-	-	-	-	981.	15.	T 4 R 11 T 17	-	-	+	-	+	-	+	-	-
940.	15.	T 4 R 5 T 32	+	-	-	-	-	+	-	-	-	982.	15.	T 4 R 11 T 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
941.	15.	T 4 R 5 T 33	+	-	-	-	-	-	-	-	-	983.	15.	T 4 R 11 T 38	+	-	-	-	+	-	-	-	-
942.	15.	T 4 R 5 T 34	+	-	+	-	+	-	+	-	-	984.	15.	T 4 R 11 T 15	-	-	-	-	+	-	-	-	-
943.	15.	T 4 R 5 T 35	-	-	+	-	-	-	-	-	-	985.	15.	T 4 R 11 T 35	-	-	-	-	+	-	-	-	-
944.	15.	T 4 R 5 T 36	-	-	+	-	+	-	-	-	-	986.	15.	T 4 R 11 T 25	+	-	-	-	+	-	-	-	-
945.	15.	T 4 R 5 T 37	-	-	-	-	+	-	-	-	-	987.	15.	T 4 R 11 T 4	+	-	-	-	-	-	+	-	-
946.	15.	T 4 R 5 T 38	-	-	-	-	+	-	-	-	-	988.	15.	T 4 R 11 T 20	+	-	-	-	-	-	-	-	-
947.	15.	T 4 R 5 T 39	+	-	-	-	+	-	-	-	-	989.	15.	T 4 R 11 T 22	+	-	-	-	+	-	-	-	-
948.	15.	T 4 R 5 T 40	-	-	-	-	+	+	-	-	-	990.	15.	T 4 R 11 T 26	-	-	-	-	+	-	-	-	-
949.	15.	T 4 R 5 T 41	-	-	+	-	+	+	-	-	-	991.	15.	T 4 R 11 T 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
950.	15.	T 4 R 5 T 43	-	-	+	-	-	+	-	-	-	992.	15.	T 4 R 11 T 40	+	-	-	-	+	-	+	-	-
951.	15.	T 4 R 5 T 44	-	-	+	-	+	+	-	-	-	993.	15.	T 4 R 11 T 6	+	-	-	-	+	-	-	-	-
952.	15.	T 4 R 5 T 45	-	-	-	-	+	-	-	-	-	994.	15.	T 4 R 11 T 34	+	-	-	-	+	-	-	-	-
953.	15.	T 4 R 5 T 46	-	-	-	-	+	-	-	-	-	995.	15.	T 4 R 11 T 5	+	-	-	-	-	-	-	-	-
954.	15.	T 4 R 5 T 47	-	-	-	-	+	+	-	-	-	996.	15.	T 4 R 11 T 3	-	-	+	-	-	-	-	-	-
955.	15.	T 4 R 5 T 48	+	-	-	-	+	+	+	-	-	997.	15.	T 4 R 11 T 27	-	-	-	-	-	-	-	-	-
956.	15.	T 4 R 5 T 49	-	-	+	-	+	+	-	-	-	998.	15.	T 4 R 11 T 13	-	-	-	-	-	-	-	-	-
957.	15.	T 4 R 5 T 52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	999.	15.	T 4 R 11 T 1	+	-	-	-	+	-	-	-	-
958.	15.	T 4 R 5 T 53	+	-	-	-	-	+	+	-	-	1000.	15.	T 4 R 11 T 7	-	-	+	-	-	-	-	-	-

nastavak Tablice 28.

Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GFKV	GVA	GVB	Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GFKV	GVA	GVB
1001.	15.	T 4 R 11 T 14	-	-	-	-	-	-	+	-	-	1047	16.	T 4 R 34 Be 23	-	-	+	-	+	-	-	-	-
1002.	15.	T 4 R 11 T 16	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1048	16.	T 4 R 34 Be 24	-	-	+	-	-	-	-	-	-
1003.	15.	T 4 R 11 T 18	-	-	+	-	-	-	-	-	-	1049	16.	T 4 R 34 Be 5	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1004.	15.	T 4 R 11 T 12	-	-	-	-	-	-	+	-	-	1050	16.	T 4 R 36 Be 6	-	-	-	-	+	+	-	-	-
1005.	15.	T 4 R 11 T 11	+	-	-	-	+	-	+	-	-	1051	16.	T 4 R 35 Be 25	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1006.	15.	T 4 R 11 T 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1052	16.	T 4 R 35 Be 26	-	-	+	-	+	+	-	-	-
1007.	16.	T 4 R 47 Be 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1053	16.	T 4 R 34 Be 1	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1008.	16.	T 4 R 47 Be 5	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1054	16.	T 4 R 34 Be 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1009.	16.	T 4 R 47 Be 15	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1055	16.	T 4 R 35 Be 13	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1010.	16.	T 4 R 47 Be 19	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1056	16.	T 4 R 35 Be 12	-	-	+	-	+	-	-	-	-
1011.	16.	T 4 R 47 Be 20	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1057	16.	T 4 R 35 Be 10	-	-	+	-	+	+	-	-	-
1012.	16.	T 4 R 47 Be 23	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1058	16.	T 4 R 48 Be 45	-	-	+	-	+	+	-	-	-
1013.	16.	T 4 R 47 Be 25	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1059	16.	T 4 R 34 Be 11	-	-	-	-	+	+	-	-	-
1014.	16.	T 4 R 47 Be 28	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1060	16.	T 4 R 35 Be 18	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1015.	16.	T 4 R 47 Be 30	-	-	-	-	+	-	+	-	-	1061	16.	T 4 R 48 Be 47	-	-	-	-	+	+	-	-	-
1016.	16.	T 4 R 47 Be 31	-	-	+	-	+	-	+	-	-	1062	16.	T 4 R 35 Be 8	-	-	+	-	+	-	-	-	-
1017.	16.	T 4 R 47 Be 32	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1063	16.	T 4 R 48 Be 44	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1018.	16.	T 4 R 47 Be 33	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1064	16.	T 4 R 48 Be 46	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1019.	16.	T 4 R 47 Be 37	-	-	+	-	+	-	-	-	-	1065	16.	T 4 R 35 Be 20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1020.	16.	T 4 R 47 Be 40	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1066	16.	T 4 R 48 Be 41	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1021.	16.	T 4 R 47 Be 41	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1067	16.	T 4 R 48 Be 43	-	-	+	-	+	-	+	-	-
1022.	16.	T 4 R 47 Be 42	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1068	16.	T 4 R 35 Be 1	-	-	+	-	+	-	-	-	-
1023.	16.	T 4 R 47 Be 43	-	-	-	-	+	-	+	-	-	1069	16.	T 4 R 48 Be 42	-	-	+	-	-	+	-	-	-
1024.	16.	T 4 R 47 Be 44	-	-	-	-	+	-	+	-	-	1070	16.	T 4 R 48 Be 35	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1025.	16.	T 4 R 47 Be 45	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1071	16.	T 4 R 35 Be 7	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1026.	16.	T 4 R 47 Be 46	-	-	-	-	+	-	+	-	-	1072	16.	T 4 R 35 Be 16	-	-	-	-	-	+	-	-	-
1027.	16.	T 4 R 47 Be 48	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1073	16.	T 4 R 48 Be 26	-	-	-	-	-	+	+	-	-
1028.	16.	T 4 R 47 Be 49	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1074	16.	T 4 R 48 Be 21	-	-	-	-	+	+	-	-	-
1029.	16.	T 4 R 47 Be 50	-	-	+	-	+	-	-	-	-	1075	16.	T 4 R 48 Be 39	-	-	-	-	+	+	-	-	-
1030.	16.	T 4 R 47 Be 52	-	-	+	-	+	-	+	-	-	1076	16.	T 4 R 48 Be 48	-	-	-	-	+	+	-	-	-
1031.	16.	T 4 R 47 Be 53	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1077	16.	T 4 R 48 Be 29	-	-	-	-	+	-	+	-	-
1032.	16.	T 4 R 47 Be 55	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1078	16.	T 4 R 35 Be 6	-	-	-	-	+	+	-	-	-
1033.	16.	T 4 R 47 Be 57	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1079	16.	T 4 R 48 Be 24	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1034.	16.	T 4 R 47 Be 59	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1080	16.	T 4 R 48 Be 30	-	-	-	-	+	+	-	-	-
1035.	16.	T 4 R 47 Be 61	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1081	16.	T 4 R 48 Be 7	-	-	+	-	+	-	-	-	-
1036.	16.	T 4 R 47 Be 63	-	-	-	-	+	-	+	-	-	1082	16.	T 4 R 48 Be 12	-	-	+	-	+	+	-	-	-
1037.	16.	T 4 R 47 Be 64	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1083	16.	T 4 R 48 Be 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1038.	16.	T 4 R 47 Be 65	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1084	16.	T 4 R 48 Be 10	-	-	-	-	+	+	-	-	-
1039.	16.	T 4 R 47 Be 67	-	-	+	-	+	-	-	-	-	1085	16.	T 4 R 48 Be 20	+	-	-	-	+	+	+	-	-
1040.	16.	T 4 R 34 Be 4	-	-	+	-	+	-	-	-	-	1086	16.	T 4 R 48 Be 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1041.	16.	T 4 R 34 Be 7	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1087	16.	T 4 R 48 Be 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1042.	16.	T 4 R 34 Be 10	-	-	-	-	+	-	+	-	-	1088	16.	T 4 R 48 Be 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1043.	16.	T 4 R 34 Be 12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1089	16.	T 3 R 3 Ž 28	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1044.	16.	T 4 R 34 Be 13	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1090	16.	T 3 R 3 Ž 27	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1045.	16.	T 4 R 34 Be 19	-	-	+	-	+	-	-	-	-	1091	16.	T 3 R 3 Ž 22	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1046.	16.	T 4 R 34 Be 20	-	-	+	-	+	-	-	-	-	1092	16.	T 3 R 3 Ž 40	-	-	-	-	-	-	-	-	-

## nastavak Tablice 28.

Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GFkV	GVA	GVB	Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GFkV	GVA	GVB
1093.	16.	T 3 R 3 Ž 32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1140	19.	T 14	+	-	-	-	-	-	-	-	-
1094.	16.	T 3 R 3 Ž 41	-	-	-	-	-	-	+	-	-	1141	19.	T 15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1095.	16.	T 3 R 3 Ž 43	-	-	+	-	+	-	-	-	-	1142	19.	T 16	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1096.	16.	T 3 R 3 Ž 33	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1143	19.	T 17	-	-	+	-	-	-	-	-	-
1097.	16.	T 3 R 3 Ž 59	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1144	19.	T 18	+	-	-	-	-	-	-	-	-
1098.	16.	T 3 R 3 Ž 50	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1145	19.	T 19	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1099.	16.	T 3 R 3 Ž 18	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1146	19.	T 20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1100.	16.	T 3 R 3 Ž 15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1147	19.	T 21	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1101.	16.	T 3 R 3 Ž 62	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1148	19.	T 22	-	-	+	-	+	-	-	-	-
1102.	16.	T 3 R 3 Ž 53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1149	19.	T 23	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1103.	16.	T 3 R 3 Ž 54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1150	19.	T 24	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1104.	16.	T 3 R 3 Ž 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1151	19.	T 25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1105.	16.	T 3 R 3 Ž 65	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1152	19.	T 26	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1106.	16.	T 3 R 3 Ž 48	-	-	-	-	+	-	+	-	-	1153	19.	T 27	+	-	-	-	-	-	-	-	-
1107.	16.	T 3 R 3 Ž 20	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1154	19.	T 28	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1108.	16.	T 3 R 3 Ž 68	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1155	19.	T 29	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1109.	16.	T 3 R 3 Ž 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1156	19.	T 30	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1110.	17.	R 3 K 23	-	-	-	-	+	+	-	-	-	1157	19.	T 31	-	-	+	-	-	-	-	-	-
1111.	17.	R 3 K 21	+	-	+	-	+	+	+	-	-	1158	19.	T 32	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1112.	17.	R 3 K 8	-	-	-	-	+	+	-	-	-	1159	19.	T 33	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1113.	17.	R 3 K 11	+	-	+	-	+	-	-	-	-	1160	19.	T 34	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1114.	17.	R 3 K 2	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1161	19.	T 35	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1115.	17.	R 2 K 1	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1162	19.	T 36	+	-	+	-	-	-	-	-	-
1116.	17.	R 2 K 2	+	-	+	-	+	-	-	-	-	1163	19.	T 37	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1117.	17.	R 1 K 8	-	-	+	-	+	+	-	-	-	1164	19.	T 38	+	-	+	-	-	-	-	-	-
1118.	17.	R 3 K 16	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1165	19.	T 39	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1119.	17.	R 2 K 1	-	+	+	-	+	-	-	-	-	1166	19.	T 40	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1120.	18.	R 10 (I) D 6 (S)	+	-	+	-	+	-	-	-	-	1167	19.	T 41	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1121.	18.	R 9 (I) D 7 (S)	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1168	19.	T 42	+	-	-	-	-	-	-	-	-
1122.	18.	R 9 (I) D 6 (S)	+	-	-	+	+	+	+	-	-	1169	19.	T 43	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1123.	18.	R 9 (I) D 9 (S)	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1170	19.	T 44	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1124.	18.	R 8 (I) D 7 (S)	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1171	19.	T 45	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1125.	18.	R 8 (I) D 6 (S)	+	-	-	-	+	-	+	-	-	1172	19.	T 46	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1126.	18.	R O GOMILA D 3	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1173	19.	T 47	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1127.	19.	T 1	-	-	+	-	-	-	-	-	-	1174	19.	T 48	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1128.	19.	T 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1175	19.	T 49	-	-	+	-	-	-	-	-	-
1129.	19.	T 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1176	19.	T 50	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1130.	19.	T 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1177	19.	Bl 2	+	-	-	-	+	-	-	-	-
1131.	19.	T 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1178	19.	Bl 4	+	-	-	-	-	-	+	-	-
1132.	19.	T 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1179	19.	Bl 5	+	-	-	-	-	-	-	-	-
1133.	19.	T 7	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1180	19.	Bl 9	+	-	-	-	-	-	-	-	-
1134.	19.	T 8	-	-	+	-	-	-	-	-	-	1181	19.	Bl 10	+	-	-	-	+	-	+	-	-
1135.	19.	T 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1182	19.	Bl 11	+	-	-	-	+	-	-	-	-
1136.	19.	T 10	-	-	+	-	-	-	-	-	-	1183	19.	Bl 12	+	-	-	-	+	-	+	-	-
1137.	19.	T 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1184	19.	Bl 13	+	-	-	-	-	-	-	-	-
1138.	19.	T 12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1185	19.	Bl 14	+	-	-	-	+	-	+	-	-
1139.	19.	T 13	-	-	+	-	-	-	-	-	-	1186	19.	Bl 15	+	-	-	-	-	-	-	-	-

nastavak Tablice 28.

Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV- 4-9	GFkV	GVA	GVB	Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV- 4-9	GFkV	GVA	GVB
1187.	19.	Bl 17	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1234	20.	R 12 Bl 2	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1188.	19.	Bl 18	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1235	20.	R 16 T 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1189.	19.	Bl 19	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1236	20.	R 2 K 2	+	-	-	-	+	-	-	-	-
1190.	19.	Bl 21	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1237	20.	R 2 D 1	+	-	-	-	+	-	-	-	-
1191.	19.	Bl 22	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1238	20.	R 1 T 5	+	-	-	-	+	-	-	-	-
1192.	19.	Bl 23	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1239	20.	R 2 D 4	+	-	+	-	+	-	+	-	-
1193.	19.	Bl 24	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1240	20.	R 13 Be 2	+	-	-	-	+	-	-	-	-
1194.	19.	Bl 25	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1241	20.	R 2 D 5	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1195.	19.	Bl 26	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1242	20.	R 2 K 4	-	-	+	-	+	+	-	-	-
1196.	19.	Bl 27	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1243	20.	R 13 K 2	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1197.	19.	Bl 28	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1244	20.	R 13 Ž 3 (prolaz 4)	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1198.	19.	Bl 29	+	-	-	-	+	-	+	-	-	1245	20.	R 13 Ž 5 (prolaz 4)	-	-	-	-	+	-	+	-	-
1199.	19.	Bl 30	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1246	20.	R 9 K 3	-	-	-	-	+	+	+	-	-
1200.	19.	Bl 31	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1247	20.	R 13 Be 4	+	-	+	-	+	+	+	-	-
1201.	19.	Bl 32	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1248	20.	R 7 T 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1202.	19.	Bl 33	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1249	20.	R 1 T 2	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1203.	19.	Bl 34	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1250	20.	R 10 Bl 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1204.	19.	Bl 35	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1251	20.	R 6 Ž 2	+	+	-	-	+	-	-	-	-
1205.	19.	Bl 36	+	-	-	-	-	-	+	-	-	1252	20.	R 6 Ž 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1206.	19.	Bl 37	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1253	20.	R 6 Ž 1	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1207.	19.	Bl 38	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1254	20.	R 3 T 1	+	-	-	-	-	-	-	-	-
1208.	19.	Bl 39	+	-	-	-	+	-	+	-	-	1255	20.	R 5 D 4	-	-	-	-	+	-	+	-	-
1209.	19.	Bl 40	+	-	-	-	-	-	+	-	-	1256	20.	R 7 Be 5	-	-	-	-	+	-	+	-	-
1210.	19.	Bl 41	+	-	-	-	-	-	+	-	-	1257	20.	R 1 T 4	-	-	-	-	-	-	+	-	-
1211.	19.	Bl 42	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1258	20.	R 7 T 2	-	-	+	-	-	-	+	-	-
1212.	19.	Bl 43	-	-	-	-	-	-	+	-	-	1259	20.	R 2 D 2	-	-	+	-	+	-	+	-	-
1213.	19.	Bl 44	+	-	-	-	+	-	+	-	-	1260	20.	R 2 K 5	+	-	+	-	+	-	-	-	-
1214.	19.	Bl 45	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1261	20.	R 7 Be 4	+	-	-	-	+	-	-	-	-
1215.	19.	Bl 47	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1262	20.	R 4 K 1	+	-	-	-	+	-	-	-	-
1216.	19.	Bl 48	+	-	-	-	+	-	+	-	-	1263	20.	R 2 D 3	-	-	-	+	+	+	+	-	-
1217.	19.	Bl 49	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1264	20.	R 9 K 5	-	-	-	-	+	-	+	-	-
1218.	19.	Bl 50	+	-	-	-	+	-	+	-	-	1265	20.	R 2 K 3	+	-	+	-	+	-	-	-	-
1219.	19.	Bl 20	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1266	20.	R 3 T 3	-	-	+	-	-	-	+	-	-
1220.	19.	Bl 46	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1267	20.	R 1 T 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1221.	19.	Bl 3	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1268	20.	R 3 T 5	-	-	+	-	-	-	+	-	-
1222.	19.	Bl 1	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1269	20.	R 5 Ž 5	-	-	-	-	+	-	+	-	-
1223.	19.	Bl 7	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1270	20.	R 13 Ž 1	-	-	-	-	+	-	+	-	-
1224.	19.	Bl 16	+	-	-	-	+	-	+	-	-	1271	20.	R 5 D 1	-	-	+	-	+	-	-	-	-
1225.	19.	Bl 8	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1272	20.	R 7 T 3	-	-	-	-	+	-	+	-	-
1226.	19.	Bl 6	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1273	20.	R 4 K 2	+	-	+	-	+	-	-	-	-
1227.	20.	R 15 Bl 1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1274	20.	R 4 D 5	-	-	+	-	+	-	-	-	-
1228.	20.	R 15 Bl 4	+	+	+	-	+	-	-	-	-	1275	20.	R 6 Ž 4	+	+	-	-	+	-	-	-	-
1229.	20.	R 16 T 5	-	-	+	-	+	-	-	-	-	1276	20.	R 4 D 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1230.	20.	R 16 T 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1277	20.	R 13 Ž 2 (prolaz 4)	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1231.	20.	R 12 Bl 4	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1278	20.	R 3 T 2	-	+	-	-	-	-	-	-	-
1232.	20.	R 12 Bl 3	+	-	-	-	+	-	+	-	-	1279	20.	R 4 D 2	+	+	-	-	+	-	-	-	-
1233.	20.	R 11 Be 4 (prolaz 4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1280	20.	R 7 Be 3	+	+	-	-	+	-	-	-	-



## nastavak Tablice 28.

Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GFKV	GVA	GVB	Redni broj uzorka	LOKACIJA	OZNAKA UZORKA	GFLV	ArMV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-4-9	GFKV	GVA	GVB
			-	-	+	-	+	-	-	-	-				-	-	-	-	+	-	+	+	-
1281.	20.	R 5 Ž 1	-	-	+	-	+	-	-	-	-	1307	20.	R 11 Be 2	-	-	+	-	+	+	-	-	-
1282.	20.	R 7 T 5	-	-	+	-	+	-	-	-	-	1308	20.	R 15 Bl 2 (prolaz 3)	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1283.	20.	R 13 Be 1	-	+	-	-	+	-	-	-	-	1309	20.	R 11 Be 3 (prolaz 4)	-	-	+	-	+	+	+	-	-
1284.	20.	R 9 K 2	-	-	+	-	+	-	-	-	-	1310	20.	R 11 Be 2 (prolaz 4)	-	-	+	-	+	-	-	-	-
1285.	20.	R 5 D 2	+	-	+	-	+	-	-	-	-	1311	20.	R 5 Ž 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1286.	20.	R 7 Be 1	+	+	+	-	+	-	-	-	-	1312	20.	R 15 Bl 3 (prolaz 3)	+	-	+	-	+	-	-	-	-
1287.	20.	R 13 K 4	-	+	+	-	+	-	-	-	-	1313	20.	R 15 D 1	+	-	-	-	+	+	-	-	-
1288.	20.	R 9 K 1	+	+	+	-	+	-	-	-	-	1314	20.	R 11 Be 4	-	-	-	-	+	+	+	-	-
1289.	20.	R 7 T 1	-	-	+	-	+	-	-	-	-	1315	20.	R 15 D 4	-	-	-	-	+	+	-	-	-
1290.	20.	R 13 Ž 5	-	+	-	-	+	-	-	-	-	1316	20.	R 12 Bl 5	+	-	-	-	+	-	-	-	-
1291.	20.	R 10 Bl 1	-	+	+	-	+	-	-	-	-	1317	20.	R 11 Be 3	+	-	-	-	+	-	-	-	-
1292.	20.	R 13 Be 5	-	-	+	-	+	-	-	-	-	1318	20.	R 11 Be 1	-	-	-	-	+	-	+	-	-
1293.	20.	R 10 Bl 2	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1319	20.	R 12 Bl 1	+	-	-	-	-	-	-	-	-
1294.	20.	R 13 Ž 4 (prolaz 4)	-	+	-	-	+	-	-	-	-	1320	20.	R 15 D 2	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1295.	20.	R 13 Be 3	-	+	-	-	+	-	-	-	-	1321	20.	R 11 Be 1 (prolaz 4)	+	-	+	-	+	-	+	-	-
1296.	20.	R 4 K 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1322	20.	R 13 K 1	-	-	+	-	+	-	+	-	-
1297.	20.	R 5 Ž 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1323	20.	R 13 K 5	-	-	-	-	+	+	-	-	-
1298.	20.	R 13 Ž 1 (prolaz 4)	-	+	-	-	+	-	-	-	-	1324	20.	R 10 Bl 3	-	+	-	-	+	-	-	-	-
1299.	20.	R 13 Ž 2	-	+	-	-	-	-	-	-	-	1325	20.	R 10 Bl 5	-	-	+	-	+	-	-	-	-
1300.	20.	R 13 K 3	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1326	20.	R 11 Be 5 (prolaz 2)	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1301.	20.	R 2 K 1	+	+	-	-	+	-	-	-	-	1327	20.	R 5 D 3 (prolaz 1)	+	-	-	-	+	-	-	-	-
1302.	20.	R 5 Ž 2	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1328	20.	R 6 Ž 5 (prolaz 1)	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1303.	20.	R 15 Bl 5	+	-	-	-	+	-	-	-	-	1329	20.	R 4 K 5 (prolaz 3)	+	-	-	-	+	+	-	-	-
1304.	20.	R 15 Bl 2	+	-	-	-	+	+	-	-	-	1330	20.	R 15 D 5 (prolaz 2)	-	-	-	-	+	+	-	-	-
1305.	20.	R 15 Bl 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1331	20.	R 4 K 3 (prolaz 3)	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1306.	20.	R 15 D 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1332	20.	R 5 D 5 (prolaz 1)	-	-	-	-	+	-	-	-	-

## 9. ŽIVOTOPIS AUTORICE S POPISOM OBJAVLJENIH

### DJELA

Ana Karačić rođena je u Mostaru 31. siječnja 1975. godine. Na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu 2003. godine završila je studij programa Zaštite bilja. Znanstvena usavršavanja stekla je na: *Instituto Agronomico Mediterraneo di Bari* (CIHEAM-MAI) Bari, Italija, 9. studenoga 2006. – 29. lipnja 2007. gdje je dobila diplomu “Post Graduate Specialization” (ECTS 60), Integrated Pest Management of Mediterranean Fruit Crops. Akademske godine 2008./2009. na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisala je Poslijediplomski doktorski studij “Poljoprivredne znanosti”.

Bila je angažirana na projektima *Improvement of fruit and vegetable yields through the diffusion of sustainable productive systems in the Balkan area* i *Providing genetic diversity and healthy plants for the horticulture in Bosnia and Herzegovina* (HERD/Agriculture).

Tijekom 2013. boravila je na dvotjednoj specijalizaciji na Sveučilištu Texas (USA), *Cochran Fellowship Program*.

Znanstveni interes je fitomedicina, zaštita bilja.

Do sada je objavila nekoliko znanstvenih i stručnih djela.

#### Znanstvene publikacije:

##### a1 (CC):

- Delić, D., Afechtal, M., Djelouah, K., Lolić, B., **Karačić, A.** (2013). First Report of *Citrus tristeza virus* in Citrus Orchards in Bosnia and Herzegovina, Plant Disease 97(12): 1665; <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-05-13-0548-PDN>.
- Delić, D., Lolić, B., **Karačić, A.** (2011). Screening for phytoplasma presence in West Herzegovina vineyards. Indian Journals, Phytopathogenic Mollicutes 1(2): 87-90.

##### a2

- Kozina, A., Virić, H., Gotlin Čuljak, T., **Karačić, A.** (2012). Entomofauna of pomegranate (*Punica granatum L.*), Glasilo biljne zaštite 5: 405-413.

a3

- Delić, D., Balech, B., Radulović, M., Lolić B., **Karačić A.**, Jovanović Cvetković T. (2015). Characterization of *vmp1* gene of grapevine stolbur isolates from Bosnia and Herzegovina, Proceedings of the 18<sup>th</sup> Congress of ICVG, Ankara, Turkey: 119-120.
- Lasić, V., **Karačić, A.**, Mandić, A. (2015). Ampelografski profil sorte Blatina (*Vitis vinifera* L.), Zbornik radova; Međunarodni znanstveni simpozij BLIDINJE 2015., FRAM Ziral, Mostar. 541-559.

Međunarodni skupovi

- Delić, D., **Karačić, A.**, Lolić, B. (2012). *Citrus tristeza virus* (CTV) in Bosnia and Herzegovina 5th Croatian Congress of Microbiology with International Participation Primošten, Croatia – poster presentation
- **Karačić, A.**, Filipović, A., Rotim, N., Perić, I. (2011). Testing of local Herzegovinian potato cultivar Poluranka on presence of PLRV, PVY, PVX, PVA. 10th Slovenian conference on plant protection, Podčetrtek, Slovenija – poster presentation

Stručne publikacije:

- Kozina, A., Virić, H., **Karačić, A.**, Gadže J., Kos T. (2011). Overview of the harmful entomofauna in pomegranate (*Punica granatum* L.) production in the world. Pomologia Croatica, Glasilo Hrvatskog agronomskog društva 17 (1-2): 37-49
- Rotim, N., **Karačić, A.**, Perić I. (2011). Paunovo oko (*Spilocaea oleagina* Cast.) u maslinicima Hercegovine, Glasnik zaštite bilja 1: 78-82.
- **Karačić, A.**, Ivić, D., Perić, I., Rotim, N. (2011). Uzroci propadanja sadnica kupina (*Rubus fruticosus* L.) u Tomislavgradu u sezoni 2009./2010., Glasnik zaštite bilja 1: 84-87.
- **Karačić, A.**, Kohnić, A., Đikić, M., Gadžo, D., Karić, L. (2010). Distribution, biology and control of broom rape (*Orobanche ramosa* L.), Herbologija 11(1): 1-10.
- Kohnić, A., **Karačić, A.**, Injac, M., Rotim, N. (2010). Grinja pupoljaka špinata u zaštićenim prostorima u Hercegovini, Glasnik zaštite bilja 6: 40- 44.

Sažeci u zbornicima skupova:

- **Karačić, A.**, Đermić, E., Vončina, D., Ivanković, M. (2014). Pojava virusa iz kompleksa uvijenosti lista vinove loze (GLRaV) na autohtonim kultivarima u Hercegovini, Stručni skupu HDBZ RH u Opatiji.
- Kohnić, A., **Karačić, A.**, Rozić, A., Gašpar, M., Kraljević, M., Kozina, I., Marinović, I., Prce Ž., Palameta Z., Ivić D. (2014). Osvrt na problematiku zaštite bilja u hercegovini u sezoni 2013./2014., Jedanaesti simpozij zaštite bilja u Bosni i Herecegovini, Teslić.
- Delić, D., Afechtal, M., Djelouah, K., Lolić, B., **Karačić, A.** (2014). Molecular identification of *Citrus tristeza virus*, International Symposium (III) and Scientific Conference (XIX) of Agronomists of Republic of Srpska, Trebinje.
- Delić, D., Đurić, Z., Jović, J., Lolić, B., Toševski, I., **Karačić, A.** (2013). *Bois noir* phytoplasma and *Auchenorrhyncha* species in Bosnia and Herzegovina vineyards, II international symposium and XVIII scientific conference of agronomists of republic of srpska, Trebinje.
- Lasić, V., **Karačić, A.**, Gašpar, M., Kojić, A., Blesić, M., Kraljević, M. (2010). Nazočnost virusa GFLV, ARMV, GLRAV-1 i GLRAV-3, na autohtonim kultivarima Žilavka i Blatina na lokalitetu Lopate u mostarskom vinogorju, 21st scientific-expert conference in agriculture. and food industry. Neum. September 29 – October 2. 13-131.
- Kohnić, A., **Karačić, A.**, Prce, Ž., Kraljević, M., Marinović, I., Gašpar, M. (2009). Pojava paleži grožđa u mjesecu srpnju 2009. godine i mogući uzroci te pojave. Šesti simpozij o zaštiti bilja u Bosni i Hercegovini, Tuzla.
- **Karačić, A.**, Petrović, D. (2008). Lisna nematoda krizanteme u Hercegovini, Peti simpozij o zaštiti bilja u Bosni i Hercegovini, Sarajevo.
- Petrović, D., **Karačić, A.**, Kovačević, Z., Kohnić, A., Herceg, N. (2008). Značaj korova kao domaćina štetne entomofaune i nematode, Peti simpozij o zaštiti bilja u Bosni i Hercegovini, Sarajevo.

Izvan nastavne aktivnosti

- Sudjelovanje na radionici Communication in Science-Writing and Speaking about your Research, 3. – 14. svibnja 2010, Sveučilište u Zagrebu. (1 ECTS)
- Obuka ECDL Start.

Diplomski rad:

- **Karačić A.** (2003). Štetna i korisna entomofauna u nasadu jabuke ekstenzivnog uzgoja. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet. Mentorica: prof. dr. sc. Božena Barić.

Individualni project unutar PSD:

- **Karačić A.** (2007). Monitoring and control of stone fruit fungal diseases in an experimental plot. CIHEAM-MAI, Integrated Pest Management of Mediterranean Fruit Crops, Bari, Italija. Mentor: dr. sc. Thaer Yassen. (60 ECTS)

Član Hrvatskoga društva biljne zaštite RH i Društva za zaštite bilja Bosne i Hercegovine.