

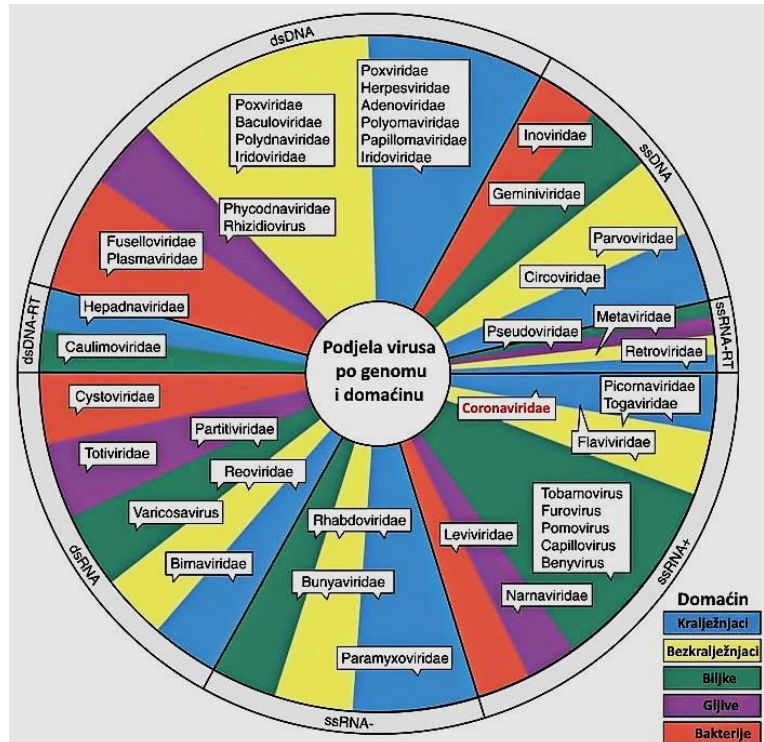
# Biljni virusi

Prof. dr. sc. Vladimir Vukadinović

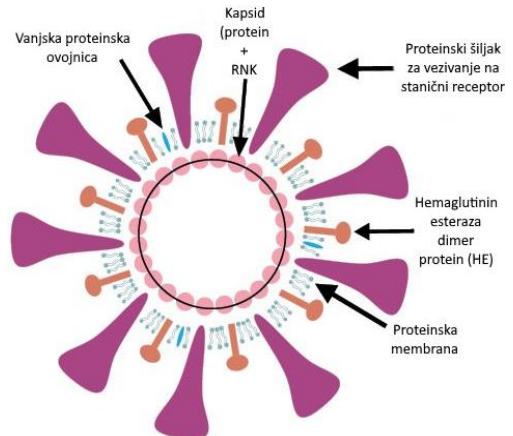
Virusi su *obligatni* (obvezni), *unutar stanični*, *biotrofni* (inficiraju samo žive stanice) i *acelularni* (nestanični) *patogeni paraziti*. Premda su vrlo jednostavne građe, često se smatraju živim bićima jer posjeduju *nukleinske kiseline* (RNK i DNK) unutar zaštitnog proteinske ovojnice (tzv. *kapsida*) i sposobnost razmnožavanja. Međutim, virusi ne posjeduju vlastiti *molekularni mehanizam replikacije* (umnažanja) nukleinskih kiselina već koriste domaćinov. Kao i njihove infektivne čestice izvan živih stanica domaćina, tzv. *virioni*, virusi su veoma sitni te se ne mogu vidjeti pod optičkim, već samo pod elektronskim mikroskopom. Virusi nisu aktivni izvan svojih domaćina što se uzima kao argument da nisu živa bića, ali su zato veoma aktivni i često smrtonosni unutar živih organizama. Njihovi domaćini su ljudi, životinje, biljke, gljivice i bakterije, ali na sreću, većina virusa zarazi samo jednu vrstu domaćina.

Virusi nisu samo još jedna skupina patogena, već su bitno drugačiji oblik život. Za razliku od svih ostalih živih organizama, virusi su *acelularne* (*nestanične*) *građe* i razmnažaju se samo unutar živih, zaraženih stanica, koristeći strukturne komponente drugih živih bića.

Virusi *kultiviranih biljaka* klasificirani su u 73 roda i 49 porodica što je tek manji dio ukupnog broja biljnih vrsta. O virusima čiji su domaćini *nekultivirane* (*samonikle*) *biljke* relativno se malo zna pa se trenutno smatra kako rijetko uzrokuju bolest uzgajanog bilja. Pojednostavljena Baltimorska klasifikacija svih virusa prikazana je grafikom (Slika 1.).



Slika 1. Klasifikacija svih virusa (Baltimorska klasifikacija)



Slika 2. Struktura virusa COVID-19 (SARS-CoV-2)

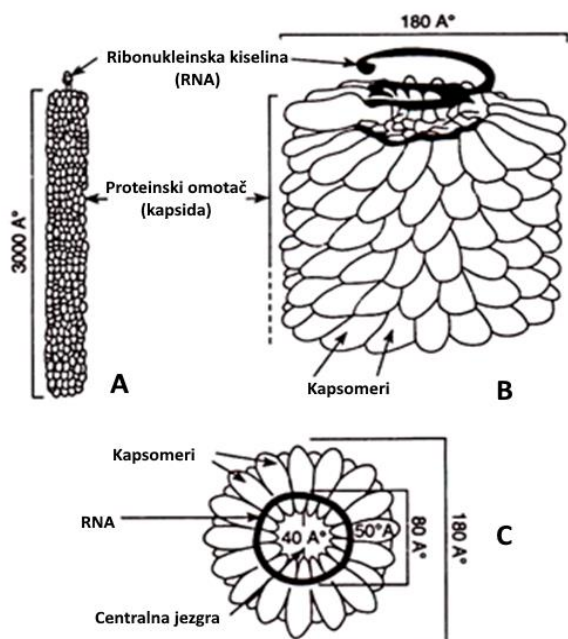
je jasno kako biljni virusi čine ogromnu štetu koja se npr. u SAD procjenjuje na 60 milijardi dolara godišnje. Prijenos biljnih virusa razlikuje se znatno od onih koji napadaju životinje i ljude. Naime, za prijenos s jedne biljke na drugu, ili iz jedne biljne stanice u drugu, virusi moraju koristiti različite mehanizme i strategije. Naime, biljke su *sesilni organizmi* (fiksirane za jedno mjesto) te je za prijenos zaraze potreban *vektor*, npr. *čovjek*, *insekti*, *grinje*, *nematode*, *protozoe*, a ~20 % virusa prenosi se sjemenom i polenom. Zatim, biljne stanice okružuju čvrste, često višeslojne stanične stijenke, pa je transport kroz *plazmodezme* (po *simplastu*)

Velika većina biljnih virusa sadrži mali, jednolančani (ss) *RNK genom* (ukupni genetski materijal nekog organizma), ali postoje i oni s dvolančanim (ds) *RNK*, *ssDNK* ili *dsDNK* genomom (Slika 1.). Više od 50 % poznatih biljnih virusa ima oblik fleksibilnog ili krutog štapića duljine između 300 - 500 i promjera 15 - 20 nm i rijetko imaju vanjsku ovojnicu (Slika 3.) za razliku od humanih virusa, čija vanjska ovojnica okružuje *kapsidu*, a građen je iz *fosfolipida* i *proteina* te pomaže u zaštiti virusa od imunološkog sustava domaćina. Također, proteinska ovojnica često sadrži molekule kojima se virus veže s receptorima stanica domaćina i olakšava humanom virusu *Covid-19* zaraziti stanice (Slika 2).

TMV (*Tobacco mosaic virus*; mozaični virus duhana, Slika 3.) prvi je determiniran kao biljni virusni patogen (1939.). Danas je jasno kako biljni virusi čine ogromnu štetu koja se npr. u SAD procjenjuje na 60 milijardi dolara godišnje. Prijenos biljnih virusa razlikuje se znatno od onih koji napadaju životinje i ljude. Naime, za prijenos s jedne biljke na drugu, ili iz jedne biljne stanice u drugu, virusi moraju koristiti različite mehanizme i strategije. Naime, biljke su *sesilni organizmi* (fiksirane za jedno mjesto) te je za prijenos zaraze potreban *vektor*, npr. *čovjek*, *insekti*, *grinje*, *nematode*, *protozoe*, a ~20 % virusa prenosi se sjemenom i polenom. Zatim, biljne stanice okružuju čvrste, često višeslojne stanične stijenke, pa je transport kroz *plazmodezme* (po *simplastu*)

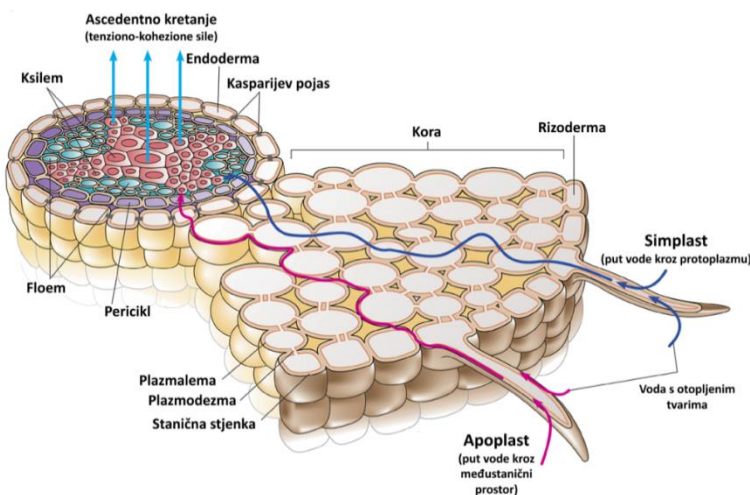
jedini put za kretanje *viriona* između biljnih stanica (Slika 4.). Međutim, biljni virusi mogu se širiti biljnom populacijom izravnim prijenosom biljnog soka iz oštećenih biljaka (npr., mehaničkom njegom različitim oruđima, alatima i rukama, prilikom žetve, ubiranja plodova, alatima za orezivanje, ispašom životinja i sl.). Općenito, TMV, virus krumpira i mozaika krastavca prenose se putem biljnog soka.

Budući da su biljni virusi obligatni, biotrofni paraziti, životni ciklus im započinje penetracijom *viriona* u živu



Slika 3. Struktura mozaičkog virusa duhana (TMV). Promjer RNK heliksa je  $\sim 80 \text{ \AA}$  (C), promjer središnje jezgre štapića je  $\sim 40 \text{ \AA}$ , a svaki kapsomer (strukture grozda) sadrži  $\sim 158$  aminokiselina i ima molekulsku masu od 17 kDa.

(mozaični virus krastavca) može zaraziti preko 1000 vrsta u 85 biljnih obitelji. Osjetljivost ili otpornost biljnih vrsta i kultivara na infekciju virusima određena je prvenstveno *biljnim genotipom*, a biljke posjeduju aktivne i pasivne mehanizme za sprečavanje virusnih infekcija. Naime, biljke su neprekidno izložene različitim patogenima te su tijekom *filogeneze* (evolucijskog razvoja) dobro prilagođene i imaju razvijene mehanizme obrane. Također, biljke posjeduju opći obrambeni sustav, analogan imunološkom sustavu ljudi i životinja, koji prepoznaje vrstu patogena, mehanizme za prijenos alarmnog signala i brzo aktiviranje učinkovitih odgovora obrane koji ograničavaju infekciju. Između biljaka i patogena, kao i između ljudi i infektivnih bolesti, vodi se neprekidan i žestok rat, jer patogeni imaju razvijene i pripremljene strategije kako sabotirati imunološki sustav, a domaćini razvijene sustave obrane.



Slika 4. Model radijalnog transporta vode i hraniva po simplastu i apoplastu

*Pasivna obrana biljaka* manifestira se u trenutku kad metabolizam biljaka nije više u stanju proizvesti jednu ili više potrebnih komponenti za razmnožavanje virusa, čime se zaustavlja širenje virusa unutar biljaka. *Aktivna obrana* uključuje aktivaciju specifičnih gena otpornosti na konkretnu infekciju te mehanizme za otkrivanje i uništavanje virusom zaraženih stanica. Osnovna razlika između imunoloških sustava je da je životinjski (i ljudski) fokusiran na proteine patogena, dok biljni imunološki sustav pokušava zaustaviti tvorbu virusne RNK. Ovisno o virusu i domaćinu i okolišnim uvjetima, biljni odgovor na infekciju može varirati od

živu stanicu, ali kako nisu sposobni prodrijeti kroz *kutikulu* (vanjski, polimerni pokrov biljaka) i *staničnu stijenku za ulazak u citoplazmu biljnih stanica virionima je neophodno oštećenje kutikule i stanične stijenke.* Zatim, virus se nakon početnog umnažanja širi na susjedne stanice kroz *plazmodezme* (Slika 4.), male kanale između stanica. Mnogi virusi grade proteine koji modificiraju *plazmodezme* i tako olakšavaju kretanje virusa u susjedne stanice. Plazmodezmatski način zaraze cijele biljke je vrlo spor pa za uspješno koloniziranje cijele biljke virusi koriste *vaskularni (provodni) sustav biljaka*, uobičajeno *floemske sitaste cijevi* kroz koje se kreću pasivno zajedno s fotosintetskim produktima iz lišća. Nakon prilično brzog sistemskog širenja virusa floemom ( $\sim 1 \text{ cm/h}$ ), virus se premješta u okolne stanice gdje se dalje razmnožava. Potrebno vrijeme od početne infekcije jedne ili nekoliko stanica i sistemske infekcije traje od nekoliko dana do nekoliko tjedana, ovisno o virusu, biljci domaćinu i okolišu.

Virusi su u stanju zaraziti gotovo sve vrste kultiviranih i samoniklih biljaka, često samo nekoliko vrsti biljaka, a poneki i veoma velik broj vrsta. Primjerice, *CMV*

stanja bez simptoma do teških oštećenja pa i smrti biljaka, jednako kao i kod virusa koji inficiraju ljude i životinje.

Zajednica virusa je ogromna i zaposjeda baš svaku biološku nišu od vulkanskih, vrućih podmorskih otvora pa sve do ledene tundre. Ovi enigmatični osvajači, lebdeći između inertne materije i života, obilaze svijet u nevjerovatno velikom broju te su najbrojniji životni oblici na Zemlji, prisutni najmanje 450 mil. godina. Stoga je logično i opravdano bojati se virusa kao genijalnih patogena koji uzrokuju bolesti na svakom napadnutom živom organizmu, što uključuje gotovo sve bakterije (*bakteriofagi*), gljivice (*mikovirusi*), biljke (*fitovirusi*), životinje (*animalni*) i ljude (*humani virusi*).

Suvremena istraživanja ljudskog genoma pokazala su da on sadrži ~100.000 virusnih DNK elemenata, koji čine oko 8 % posto našeg genoma. Uloga tih drevnih virusnih DNK fragmenata može biti zaštita od bolesti, ali i povećani rizik od raka, ili drugih ozbiljnih bolesti, još je uvijek velika nepoznanica. Zapravo, čak ni na pitanje što čini virus živom organizmu ne postoji jedinstven odgovor. Virusi se veličinom jako razlikuju, od vrlo sitnog virusa *ebole*, do nedavno otkrivenih gigantskih virusa veličine bakterija koji mogu sadržavati vlastiti mehanizam replikacije nukleinskih kiselina i tako dovodeći u pitanje svoj status neživih entiteta.

Virusi su vrlo dinamične strukture jer se mogu vrlo brzo razvijati i stjecati nove genetske elemente, njihovi genomi mogu postati *himerni* (monstruozni; sastavljeni od genoma više organizama) ili čak fragmentirani, što otežava njihovu klasifikaciju, utvrđivanje podrijetla i čini ih nepredvidljivim. Stoga se mnogi virusi brzo prilagođavaju genotipovima novih domaćina, što u nekim slučajevima rezultira *epidemijom* ili *pandemijom*. [Primjerice, biljni virus mozaika krastavca \(CMV\) mijenja miris biljaka rajčice kako bi privukao više pčela ili bumbara na svoje bolesne domaćine.](#) Bolest pogađa biljke rajčice, krastavaca i paprike zaustavljajući njihov rast, uzrokuje deformirano lišće, žute mrlje i pruge, ali ne ubija biljke. No, kad se biljka jednom zarazi, bolest je neizlječiva, ali i dalje privlači oprašivače koji prenose pelud na nezaražene biljke i dalje šire bolest. Budući da oprašivači obično biraju zdrave biljke s puno cvijeća i koje emitiraju atraktivne hlapljive spojeve, CMV virus navodi oprašivače da biraju biljke podložne bolestima, da se razmnožavaju i omogućuju virusu mnoštvo budućih domaćina osjetljivih na infekciju, odnosno podržavaju razvoj *simbiotske uzajamnosti (koevolucija)*. [Ovi rezultati sugeriraju da je djelovanje biljnih patogena puno složenije nego što se prethodno mislilo,](#) zapravo, novootkriveni fenomen mogao bi dovesti do povećanja prinosa ako istraživači mogu otkriti kako virus modificira hlapljive spojeve da privuče više oprašivača. Mnogi biljni virusi koje prenose insekte razvili su mehanizme za manipuliranje ponašanjem vektora i tako zaražene biljke čine privlačnijim, a neki biljni virusi mogu manipulirati biljkama domaćinima tako da odvrćaju potencijalno razorne insekte, npr. lisne uši, vjerojatno u svrhu opstanka domaćina.

Dostupnih, komercijalnih antivirusnih spojeva koji liječe biljke trenutno još nema, ali učinkovite mjere kontrole mogu ublažiti ili spriječiti pojavu virusnih bolesti. Prvenstveno je potrebna pravovremena identifikacija virusnog patogena i njegov načina kako ulazi u *agroflocenu* (zajednicu biljaka iste vrste; usjev; nasad), kao i načina njegovog širenja, od čega ovisi poduzimanje potrebnih, uglavnom preventivnih mjera, odnosno strategije. [Preventivne mjere uključuju upotrebu certificiranog sjemena, gomolja ili sadnica bez virusa, uklanjanje rezervoara i vektora širenja virusa iz okruženja \(npr. insekti, nematode, gljivice i dr.\) i modifikaciju načina sjetve, sadnje, žetve ili berbe. Insekti, nematode ili gljivični vektori mogu se uspješno kontrolirati insekticidima, nematocidima ili fungicidi.](#)

Alternativna strategija za kontrolu virusa je korištenje prirodne ili selekcijom implementirane otpornosti na virusne infekcija. Važno je znati da je *GMO* tehnikama moguće ugraditi gene za otpornost ili fragmente virusne nukleinske kiseline u biljne kromosome (svojevrna *imunizacija*), što je puno brže i efikasnije nego li biljke učiniti otpornima prirodnim, *biološkim hibridizacijama*. Iako *genetski inženjering* nudi neograničene mogućnosti za generiranje usjeva otpornih na viruse, njegova široka primjena sadrži potencijalni rizik za ljude i okoliš te je ograničena ili zabranjena u mnogim zemljama.

[Međunarodnom anketom 250 istraživača virologa kreirana je top lista deset najopasnijih biljnih virusa:](#)

(1) Virus duhanskog mozaika (TMV), (2) Virus pjegavosti rajčice viline (TSWV), (3) Virus žutog lišća rajčice (TYLCV), (4) Virus mozaika krastavca (CMV), (5) Virus krumpira Y (PVY), (6) Virus mozaika cvjetače (CaMV), (7) Virus afričkog mozaika kasave (ACMV), (8) Virus krastavosti šljive (PPV), (9) Virus mozaika ječma (BMV) i (10) Virus krumpira X (PVX).

U Osijeku, 23. ožujka 2020. god.