



Γενική Ιολογία Φυτών

Ενότητα 1: Εισαγωγή

Νικόλαος Κατής – Βαρβάρα Μαλιόγκα
Τμήμα Γεωπονίας



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

Άδειες Χρήσης

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται σε άδειες χρήσης Creative Commons.
- Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδειας χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.



Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στα πλαίσια του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης» έχει χρηματοδοτήσει μόνο τη αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.





ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

ΑΝΟΙΚΤΑ
ΑΚΑΔΗΜΑΙΚΑ
ΜΑΘΗΜΑΤΑ



Εισαγωγή



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

Περιεχόμενα ενότητας (1)

1. Τι είναι οι ιοί;
2. Είδη ιών.
3. Δομή και αναπαραγωγή των ιών.
4. Ιοί με Διηρημένο Γονιδίωμα.
5. Αναζήτηση των τρόπων μετάδοσης των ιών.
6. Περιγραφή νέων ιολογικών ασθενειών.
7. Καθαρισμός/Απομόνωση Πρωτεϊνών.
8. Ανάπτυξη Μεθόδων Διάγνωσης.



Περιεχόμενα ενότητας (2)

9. Συμβατικές Μέθοδοι Αντιμετώπισης των Ιών.
10. Σύγχρονες Μέθοδοι Αντιμετώπισης των Ιών.
11. Περιεκτικότητα ορισμένων ιών σε πρωτεΐνη και νουκλεϊκό οξύ.
12. Ιοί με διηρημένο γονιδίωμα.
13. Ιικές πρωτεΐνες.
14. Δορυφορικοί ιοί.
15. Δορυφορικό RNA CMV: CARNA 5.



Σκοποί ενότητας

- Να γίνει μια εισαγωγή στην έννοια της ιολογίας, των ιών, της δομής τους, και της μορφολογίας τους.
- Να περιγραφεί αναλυτικά ο ρόλος των εντόμων-φορέων στη μετάδοση των ιών.
- Να παρουσιαστούν οι μέθοδοι διάγνωσης και ταυτοποίησης των ιών.
- Να περιγραφούν λεπτομερώς οι δορυφορικοί ιοί και τα χαρακτηριστικά τους.





ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

Βασικές έννοιες

Φυτοπαθολογία είναι

Η επιστήμη που μελετά τις ασθένειες των φυτών και προσπαθεί να βελτιώσει την πιθανότητα επιβίωσης των φυτών σε συνθήκες καταπόνησης από βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες.



Ασθένεια είναι

Η διαταραχή της φυσιολογικής λειτουργίας κυττάρων ή ιστών του φυτού που οφείλεται σε συνεχή ή μακράς διάρκειας ερεθισμό από παθογόνο παράγοντα και εκδηλώνεται με μεταβολές στη μορφολογία ή τη φυσιολογία.



Ασθένειες των φυτών

I. Μολυσματικές



- Μυκητολογικές.
- Βακτηριολογικές.
- Φυτοπλάσματα.
- Φανερόγαμα παράσιτα.
- Ιολογικές.
- Νηματώδεις (ΗΠΑ).

II. Μη μολυσματικές



- Υψηλές ή χαμηλές θερμοκρασίες.
- Έλλειψη ή περίσσεια νερού.
- Έλλειψη ή περίσσεια φωτός.
- Έλλειψη οξυγόνου.
- Ρύπανση περιβάλλοντος.
- Τροφοπενίες.
- Τοξικότητες στοιχείων.
- pH εδάφους.
- Τοξικότητα φαρμάκων.
- Ακατάλληλες γεωργικές πρακτικές.



Ιολογία είναι

Ο επιστημονικός κλάδος της Φυτοπαθολογίας που μελετά τις ασθένειες των φυτών που προκαλούνται από ιούς.



Απώλειες που οφείλονται σε ασθένειες (παγκοσμίως) (Agrios, 2006)

Αναμενόμενη αξία παραγωγής	1,5 τρίς δολ.
Πραγματική αξία παραγωγής (-36,5%)	950 δις δολ.
Παραγωγή χωρίς φυτοπροστασία	455 δις δολ.
Παραγωγή με φυτοπροστασία	865 δις δολ.
Ετήσιες απώλειες παραγωγής	550 δις δολ.
Ετήσιες απώλειες οφειλόμενες σε ασθένειες (14,1%)	220 δις δολ.





ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

Η έννοια του Ιού

Τι είναι οι ιοί; (1)

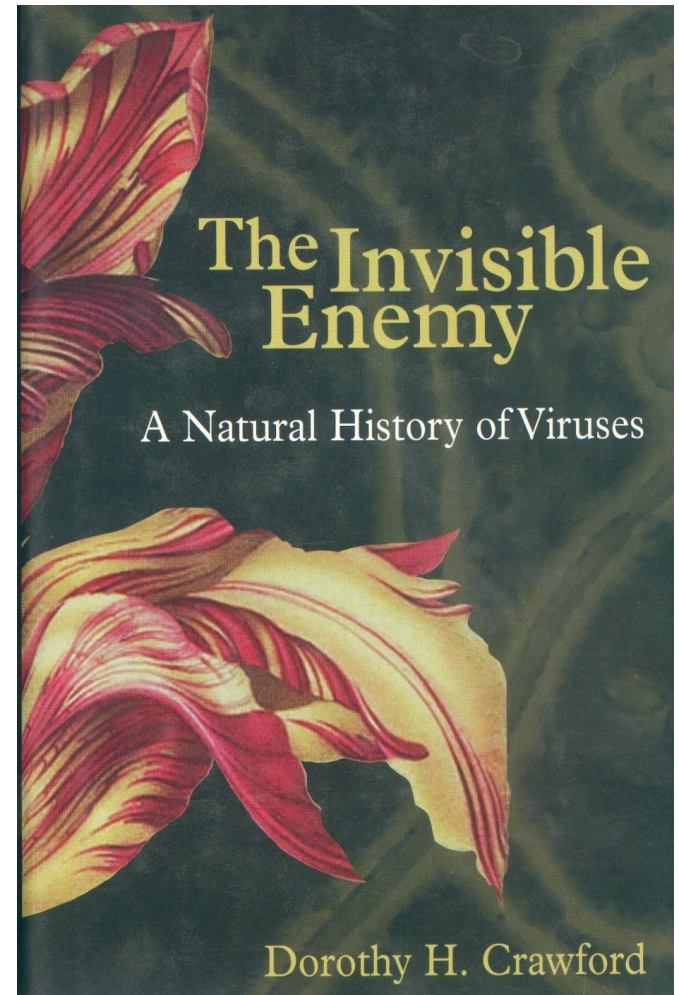
- Οι ιοί είναι υποχρεωτικά παράσιτα-παθογόνα των φυτών με διαστάσεις μικρότερες των 200 nm (**Bawden (1950)**).
- Μικρό μέγεθος ιοσωματίων, παθογόνο δύναμη, ύπαρξη νουκλεϊκού οξέος.
- **Μειονεκτήματα:**
 - Δεν γίνεται διάκριση μεταξύ ιών, φυτοπλάσμάτων και ρικετσιών.
 - Απέκλειε μεγάλους ιούς όπως π.χ. ιοί που προκαλούν ευλογιά στα ζώα (αλλά και στα φυτά: Clostero-, Poty-) αναπαραγωγή μόνο σε ζωντανά κύτταρα.



Τι είναι οι ιοί; (2)

Ο άορατος εχθρός

Dorothy H. Crawford



Τι είναι οι ιοί; (3)

- Ιοί είναι μεταδοτικά παράσιτα των οποίων το μοριακό βάρος (M.B.) του νουκλεϊκού οξέος (γονιδίωμα) είναι μικρότερο από 3×10^8 daltons και απαιτούν για την αναπαραγωγή τους τα ριβοσώματα και άλλα συστατικά του κυττάρου του ξενιστή (**Gibbs and Harrison, 1976**).
- **Μειονέκτημα:**
 - Δεν αποκλείει τα ιοειδή (M.B. 10^5 daltons).



Τι είναι οι ιοί; (4)

- Ένα ή περισσότερα μόρια (μήτρες) νουκλεϊκών οξέων που περιβάλλονται από προστατευτική καψιδιακή πρωτεΐνη (ΚΠ) ή φάκελλο λιποπρωτεΐνης και οι οποίοι είναι ικανοί να οργανώσουν την αναπαραγωγή τους μόνο σε ζωντανά κύτταρα των φυτών-ξενιστών τους. Συνήθως μεταδίδεται οριζοντίως μεταξύ των ξενιστών του.



Τι είναι οι ιοί; (5)

- Η αναπαραγωγή των ιών:
 - i. Εξαρτάται από την μηχανή πρωτεϊνοσύνθεσης του ξενιστή.
 - ii. Οργανώνεται από «πισίνες» των απαιτούμενων υλικών και όχι διχοτόμηση.
 - iii. Γίνεται σε θέσεις του κυττάρου που δεν διαχωρίζονται σαφώς (όχι διαμερισματοποίηση).

Hull (2002)



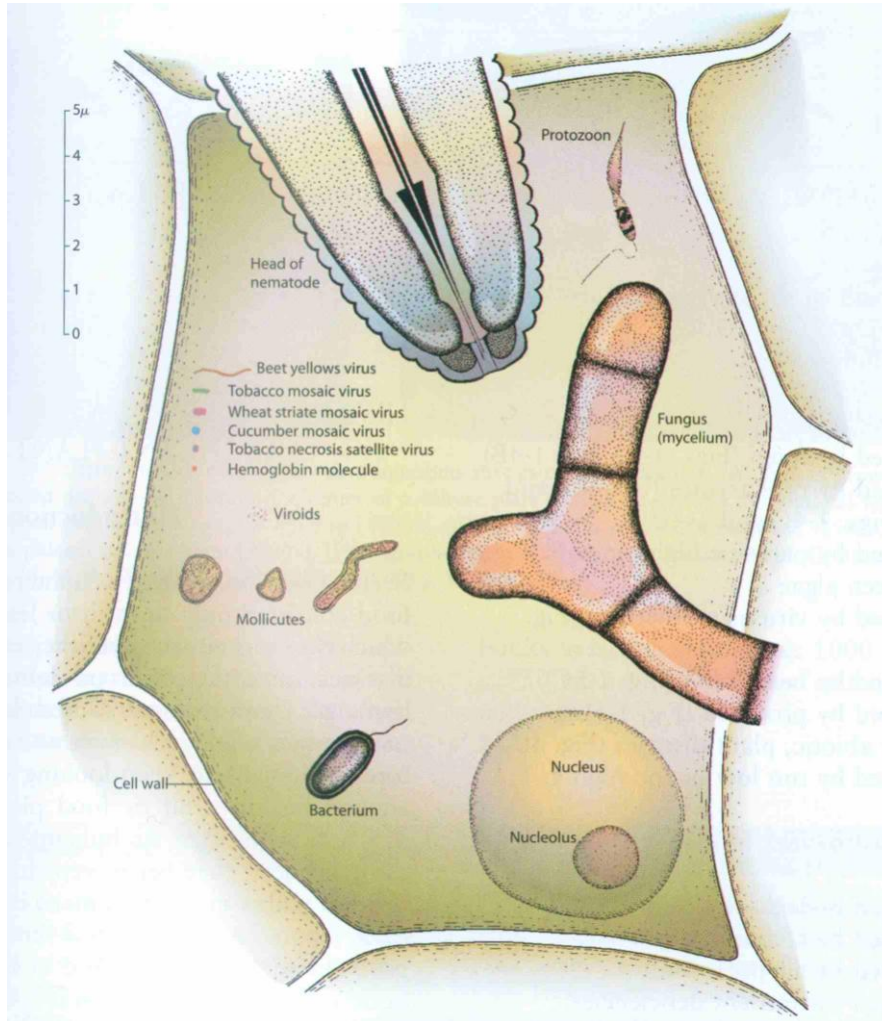
Τι είναι οι ιοί; (6)

- Μολυσματικοί υπομικροσκοπικοί (μη ορατοί με οπτικό μικροσκόπιο), διηθητοί, μη κυτταρικοί παράγοντες που αναπαράγονται μόνον σε ζωντανά κύτταρα και συχνά προκαλούν ασθένεια.
- Ενδοκυτταρικά υποχρεωτικά παράσιτα, των οποίων ο μεταβολισμός δεν παράγει ενέργεια.
- Αποτελούνται από ένα πυρήνα νουκλεϊκού οξέος (ένα ή περισσότερα μόρια RNA ή DNA) που περιβάλλεται από μια ή περισσότερες καψιδιακές πρωτεΐνες ή φάκελλο λιποπρωτεΐνης.

Bos (2001)



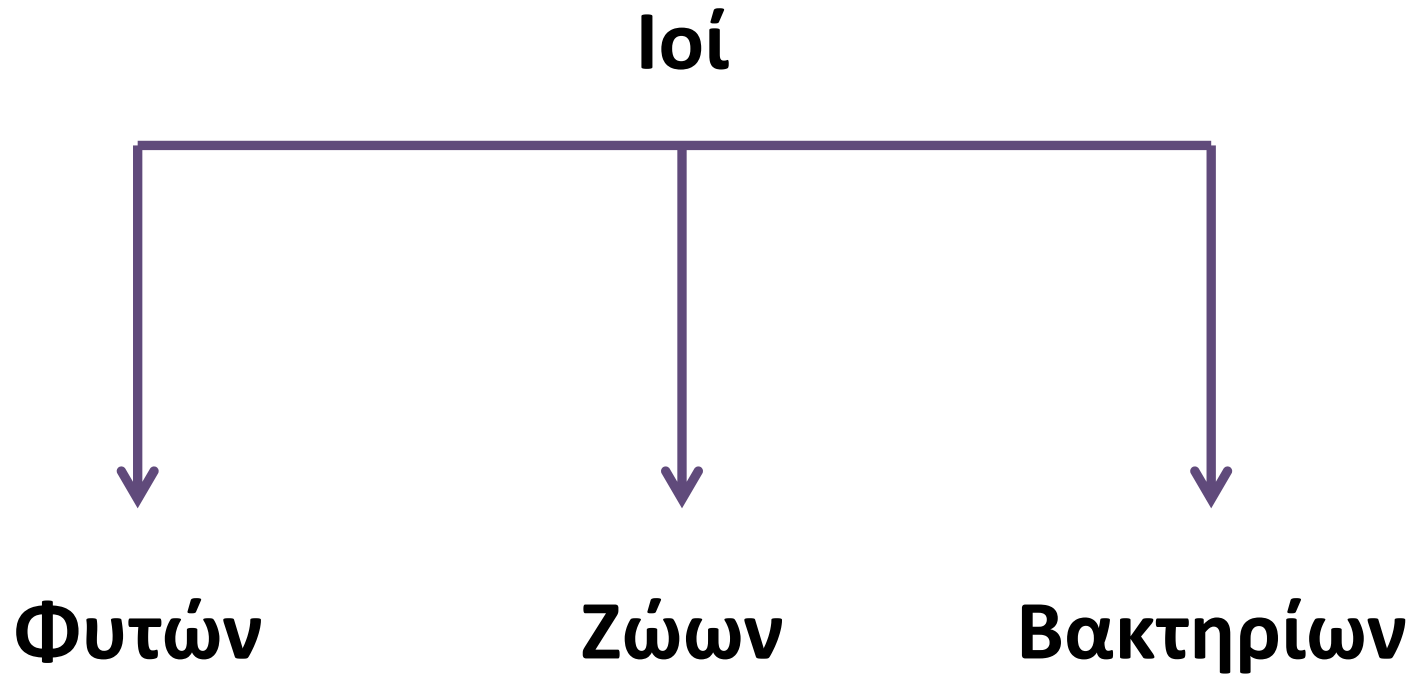
Τι είναι οι ιοί; (7)



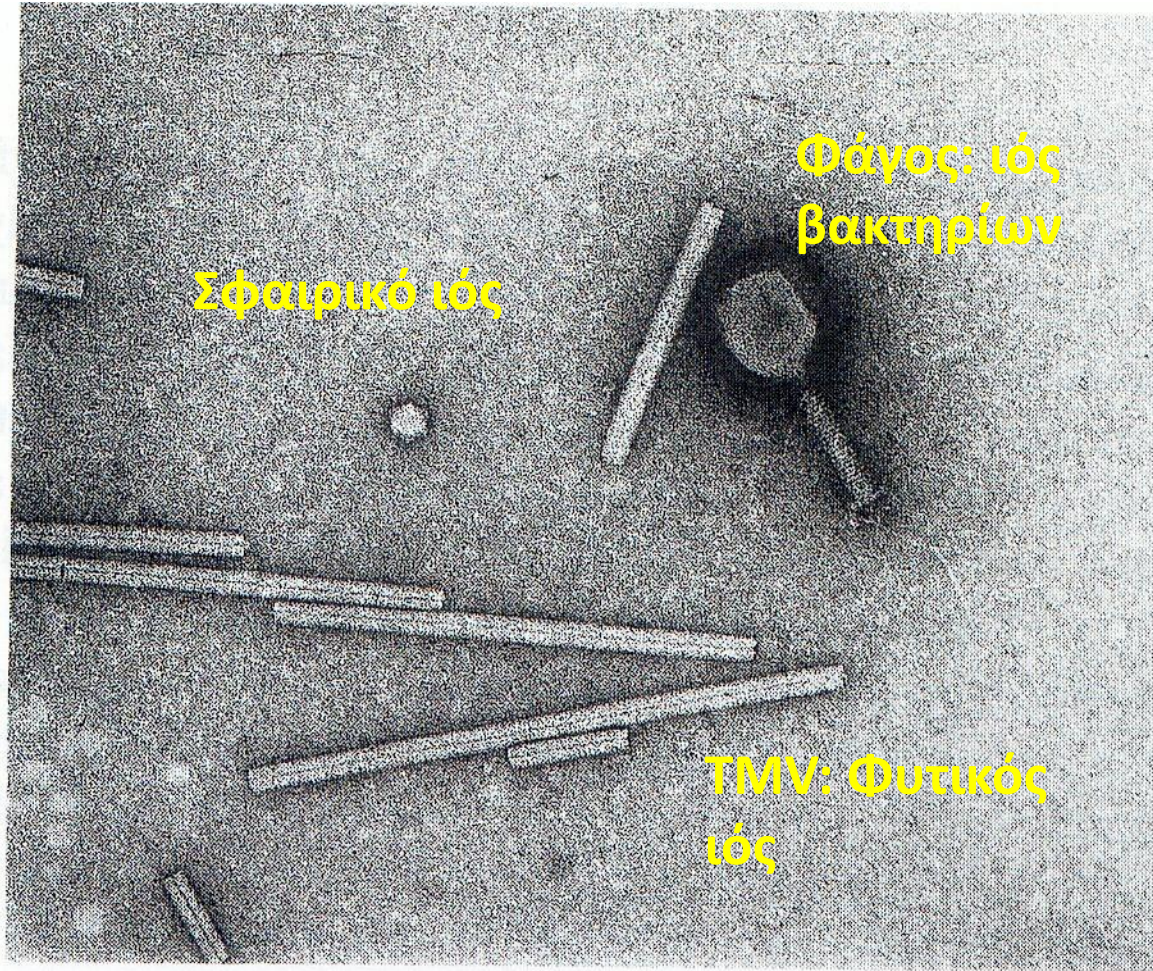
Σύστημα στο οποίο το σχήμα και το μέγεθος ορισμένων φυτοπαθογόνων παρουσιάζεται σε σχέση με ένα φυτικό κύτταρο.



Είδη ιών (1)



Είδη ιών (2)



Διάφορα είδη
ιών



Οι ιοί

- Μεταδίδονται με κάποιο τρόπο.
- Προκαλούν ασθένεια σε έναν τουλάχιστο ξενιστή.
- **Εξαίρεση:** μέλη της οικ. Partitiviridae.
- Τα μέλη της σπανίως προκαλούν ασθένεια (δεν προκαλούν συμπτώματα, λανθάνουσες μολύνσεις).
- Μεταδίδονται μόνο με το σπόρο και τη γύρη.





ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

Δομή και αναπαραγωγή των ιών

Δομή και αναπαραγωγή των ιών (1)

1. Το νουκλεϊκό οξύ RNA ή DNA, μονόκλωνο ή δίκλωνο (μονόκλωνο: +/-) (+: αλληλουχία που χρησιμοποιείται ως mRNA για μετάφραση).
2. Τα ώριμα ιοσωμάτια (virions) εκτός του γενωμικού νουκλεϊκού οξέος μπορεί να περιέχει και πολυνουκλεοτίδια.
3. Τα διαφορετικά μόρια του ιικού γονιδιώματος μπορεί να βρίσκονται στο ίδιο ή διαφορετικό ιοσωμάτιο.



Δομή και αναπαραγωγή των ιών (2)

4. Το γονιδίωμα των ιών ποικίλει ευρέως και κωδικοποιεί 1 έως 250 πρωτεΐνες (φυτικοί ιοί: 1-12).

Οι πρωτεΐνες παίζουν ρόλο:

- Στην αναπαραγωγή των ιών.
- Τη διακυτταρική μετακίνησή τους.
- Στη δομή των ιών.
- Τη μετάδοσή του με τους φορείς.



Δομή και αναπαραγωγή των ιών (3)

5. Το γονιδίωμα υφίσταται γενετικές μεταβολές:
- Μεταλλαγές σημείου: λάθη κατά την αναπαραγωγή.
 - Γενετικό ανασυνδυασμό.
 - Απώλεια ή πρόσληψη γενετικού υλικού από μη συγγενικούς ιούς ή το γονιδίωμα των ξενιστών τους.



Δομή και αναπαραγωγή των ιών (4)

6. Στο ώριμο ιοσωμάτιο (**virion**) μπορεί να βρίσκονται επίσης **ένζυμα** (σύνθεση νουκλεϊκών οξέων).
7. Η **αναπαραγωγή** των ιών λαμβάνει χώρα σε περιοχές του κυττάρου γνωστές ως **viroplasms**.
8. Το γονιδίωμα ορισμένων ιών έχει τη δυνατότητα **ενσωμάτωσης** στο **γονιδίωμα** του ξενιστή.
9. Ορισμένοι ιοί απαιτούν για την αναπαραγωγή τους στα κύτταρα του ξενιστή τους την **παρουσία ενός άλλου ιού (δορυφορικοί ιοί)**.



Δομή και αναπαραγωγή των ιών (5)



double-stranded
DNA



single-stranded
DNA



double-stranded
RNA



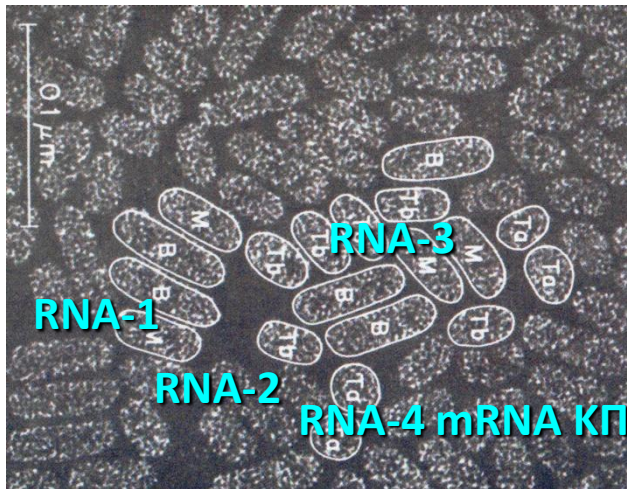
single-stranded
RNA

Μονόκλωνο και δίκλωνο DNA και RNA

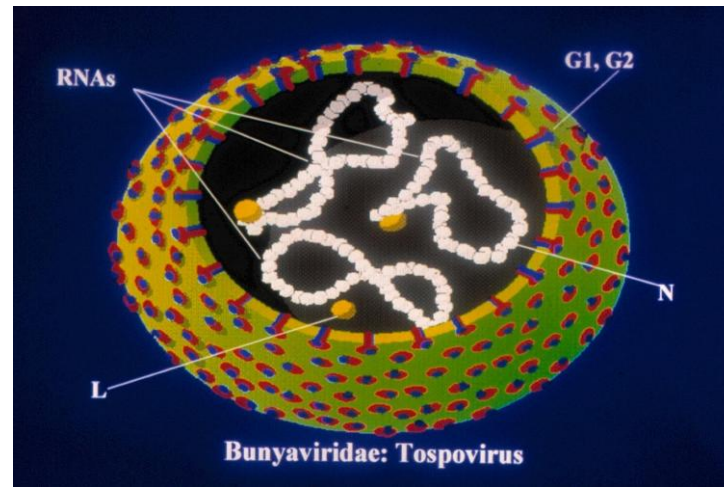


Ιοί με Διηρημένο Γονιδίωμα

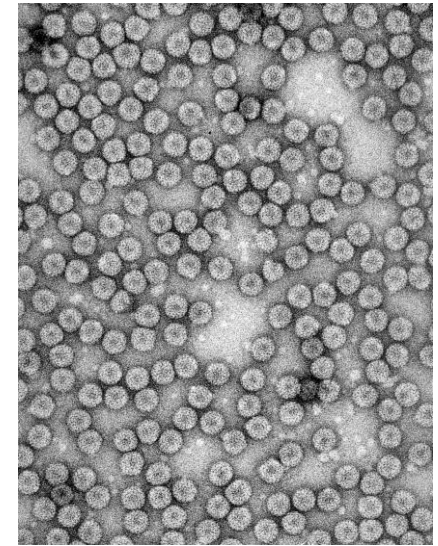
Τριμερές



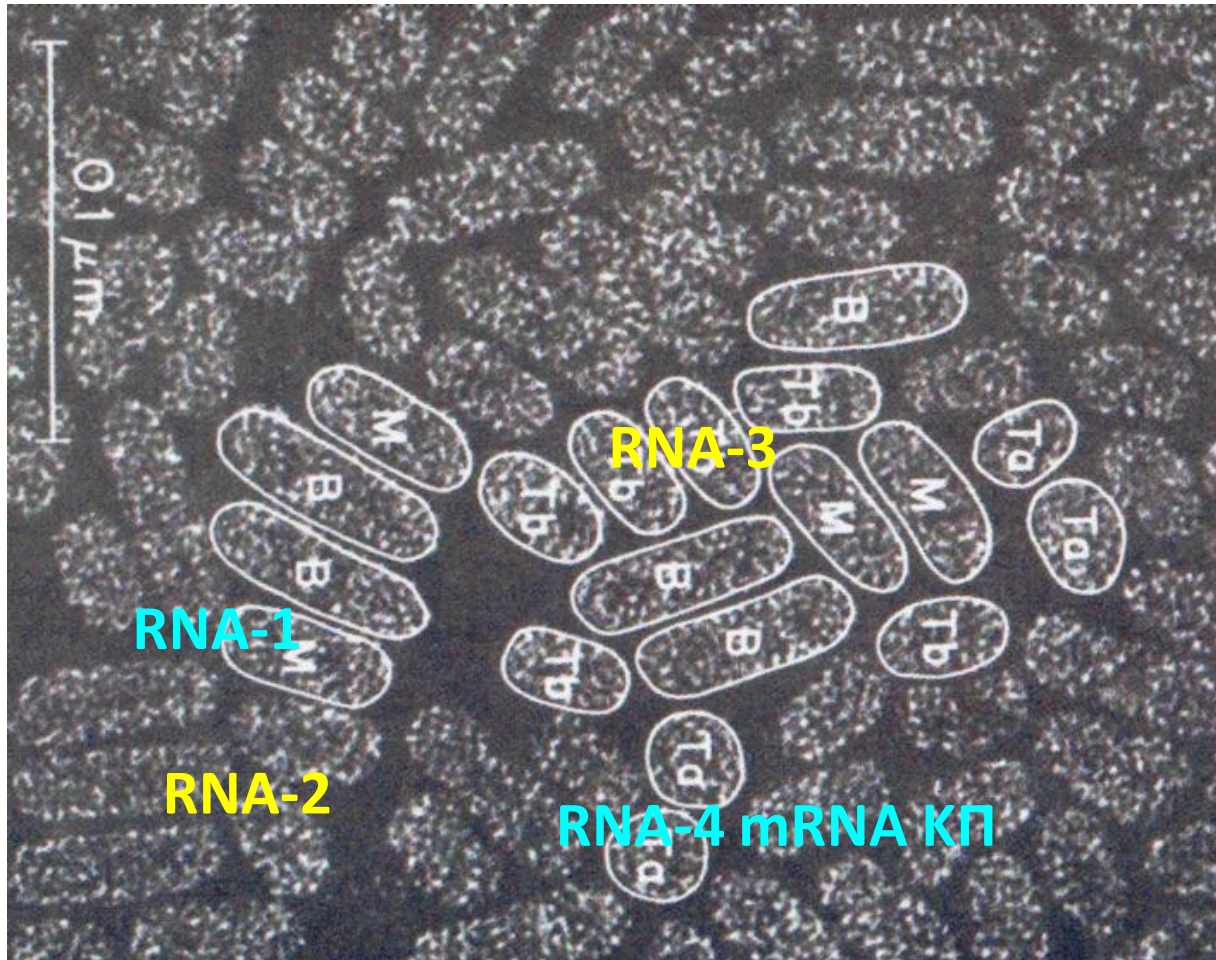
Τριμερές



Τριμερές



Ιός του μωσαϊκού της μηδικής (Alfalfa mosaic virus, AMV)

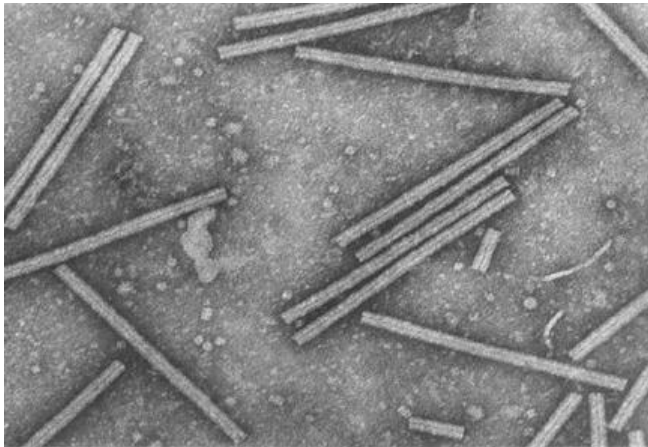
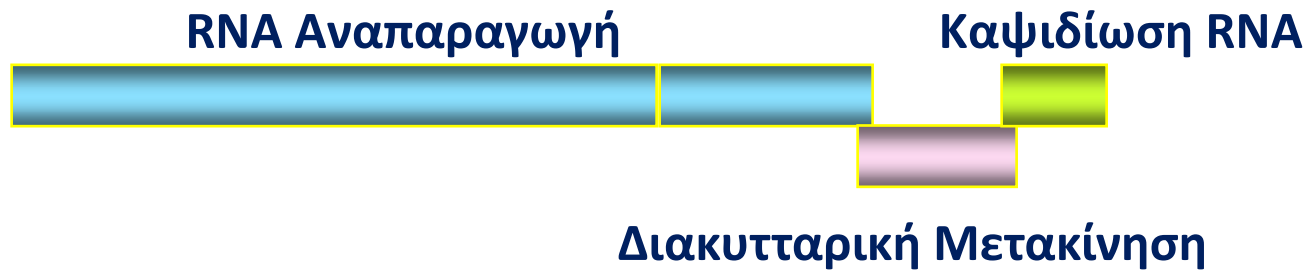


Τριμερές
γονιδίωμα
(RNA 1-3)



RNA γένωμα του TMV

- Περίπου 6.400 νουκλεοτίδια, τρία γονίδια, και τρεις βασικές λειτουργίες.



Αξία ενός ιωμένου βολβού τουλίπας (ποικ. *Semper Augustus*) (1)

Οκτώ παχιά γουρούνια	240
Δώδεκα παχιά πρόβατα	120
Είκοσι τέσσερις τόνοι σιταριού	448
Σαράντα οκτώ τόνοι ρυζιού	558
Δυο τόνοι βούτυρου	192
Χίλιες rounds τυριού	120
Οκτώ βαρέλια μπύρας	32



Αξία ενός ιωμένου βολβού τουλίπας (ποικ. *Semper Augustus*) (2)

Ένα ασημένιο ποτήρι νερού	60
Ένα πακέτο ρούχων	80
Ένα κρεβάτι (στρώμα, κουβέρτες)	100
Ένα πλοiάριο	500
Οκτώ παχιά μοσχάρια	480
Δυο βαρέλια κρασιού	70
Σύνολο	3000





ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

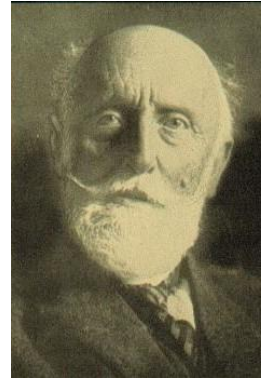
Πρώτες προσπάθειες διάγνωσης φυτικών ιών

A.E. Mayer (Ολλανδία, 1886) (1)

Καθηγητής γεωργικής χημείας, State Agricultural School (Agricultural University).

Φοιτητής του Justus von Liebig.

- **1879**: διερεύνηση της αιτιολογίας μιας μυστηριώδους ασθένειας του καπνού.
- **Περιγραφή της ασθένειας του μωσαϊκού του καπνού.**



A.E. Mayer (Ολλανδία, 1886) (2)

- **Αίτιο:** όχι μικροοργανισμός ή τροφοπενία.
- **Μολυσματική:** επιτυχής μετάδοση με φυτικό εκχύλισμα.
- Διαλυτός, παρόμοιος με ένζυμο παράγοντας.



D. Iwanovskiy (Κριμαΐα, 1892)



- Περιγραφή της ασθένειας του μωσαϊκού του καπνού (όπως ο Mayer).
- Επιτυχής μετάδοση της ασθένειας με φυτικό εκχύλισμα (όπως ο Mayer).
- Φυτικό εκχύλισμα ασθενών φυτών διατηρεί τη μολυσματικότητα και μετά το πέρασμα από φίλτρο που κατακρατεί βακτήρια (φίλτρα Chamberland).



M.W. Beijerinck (Ολλανδία 1898) (1)



Καθηγητής Βοτανικής, Wageningen

- **Φυτικό εκχύλισμα** διατηρεί τη μολυσματικότητα και μετά τη διέλευση από φίλτρο που κατακρατεί βακτήρια (1898) (Chamberland filter): ως σπόριο ή από ανοίγματα του φίλτρου.
- **Διάχυση σε αγαρόζη (μερικά mm).**



M.W. Beijerinck (Ολλανδία 1898) (2)

- Μόλυνση φυτών με μικρή ποσότητα εκχυλίσματος (αναπαράγεται στο φυτό-ξενιστή): **όχι τοξίνη.**
- **Αίτιο:** *contagium vivum fluidum* (ζωντανό μολυσματικό υγρό).



Χρησιμοποιεί για πρώτη φορά τον όρο **ιός** (συνήθως **διηθητός ιός**)



Περιγραφή του πρώτου ιού

- **1898: Dmitriy Iwanonkiy (Ρωσία)**
και
- **Martinus Beijerinck (Ολλανδία).**



Περιέγραψαν τον πρώτο ιό:
***Tobacco mosaic virus* (TMV)**



Οι Ιοί είναι (1)

- **Μολυσματικοί:** μεταδίδονται με χυμό, με έντομα ή με εμβολιασμό.
- Εξαιρετικά **μικροί σε μέγεθος:** διηθητοί (περνούν τα φίλτρα πορσελάνης που συγκρατούν βακτήρια) και συνεπώς μη ορατοί με οπτικό μικροσκόπιο (**υπομικροσκοπικοί**).



Οι Ιοί είναι (2)

- **Υποχρεωτικά παράσιτα** (αναπαράγονται μόνον σε ζωντανά κύτταρα).
- **Νουκλεοπρωτεΐνες** (νουκλεϊκά οξέα που περιβάλλονται από ένα περίβλημα πρωτεΐνης).
- **Δεν καλλιεργούνται σε θρεπτικά υποστρώματα** που χρησιμοποιούνται για μικροοργανισμούς (βακτήρια, μύκητες).



Ιοί

- Μη-κυτταρικές μορφές ζωής.
- Υποχρεωτικά ενδοκυτταρικά παράσιτα.
- Υπάρχουν ως virions (άθικτα σωματίδια) εκτός του κυττάρου (ορισμένοι διατηρούν τη μολυσματικότητα).
- Τα ιοσωμάτια περιλαμβάνουν το γονιδίωμα που περιβάλλεται από ΚΠ.



Ιοί - κύτταρα

	Κύτταρα	Ιοί
Αναπαραγωγή	Κυτταρική	Συγκρότηση από δεξαμενές υλικών
Μεμβράνη	Σε όλες τις φάσεις του βιολογικού κύκλου	Μόνο ιοί με φάκελο (έξω από το φυτικό κύτταρο)
Μηχανισμός μετάφρασης	Σε όλα τα κύτταρα	Σε κανένα ιό
Γονιδίωμα	dsDNA	ds/ss DNA ή ds/ss RNA





ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

Τρόποι μετάδοσης

Αναζήτηση των τρόπων μετάδοσης (1)

Hashimoto (Ιαπωνία, 1894-5)

- Επιτυχής μετάδοση του ιού νανισμού του ρυζιού (*Rice dwarf virus, RDV*) με το τζιτζικάκι *Nephotetix apicalis* (φορέας του ιού).

Σημαντικός αριθμός ιών
μεταδίδονται με έντομα



Αναζήτηση των τρόπων μετάδοσης (2)

- **1902:** το παθογόνο αίτιο του κίτρινου πυρετού διαμέσου φίλτρων (Walter Reed, USA).
- **1916:** Twort (England) βακτηριοφάγοι.
- **1917:** d' Herelle (Γαλλία) βακτηριοφάγοι.



Baur (1904)

- **Μετάδοση** της μολυσματικής ποικιλοχλώρωσης του Abutilon (Abutilon infectious variegation virus, AIVV) με **εμβολιασμό** αλλά **όχι με φυτικό εκχύλισμα** (όπως ο TMV).

Όλοι οι ιοί μεταδίδονται με
εμβολιασμό



Αρχές του 20ου αιώνα

Περιγραφή ασθενειών/Συμπτωματολογία:
Περιγράφεται ένας αριθμός των ασθενειών που μοιάζουν συμπτωματολογικά με το **μωσαϊκό του καπνού (TMV)**, οι οποίες διαφέρουν ως προς:

- Τους φυσικούς ξενιστές (εύρος ή κύκλος ξενιστών).
- Τις πηγές του μολύσματος.
- Τους τρόπους διασποράς (εξάπλωσης).



1900-1935

- Περιγραφή νέων ιολογικών ασθενειών.
 - Μακροσκοπικά συμπτώματα.
 - Κυτταρολογικές ανωμαλίες.
 - Εύρος ξενιστών.
 - Τρόπος μετάδοσης.
- Αδυναμία διάκρισης ιών.



Εύρος ξενιστών

- Ευρύς κύκλος ξενιστών:
 - Ένας ιός μολύνει περισσότερα από ένα φυτικό είδος.
- Μερικοί ιοί είναι εξειδικευμένοι ως προς τον ξενιστή (LYSV μόνον το πράσο).
- Πολλαπλές μολύνσεις:
 - Διαφορετικοί ιοί μολύνουν ταυτόχρονα τον ίδιο ξενιστή.



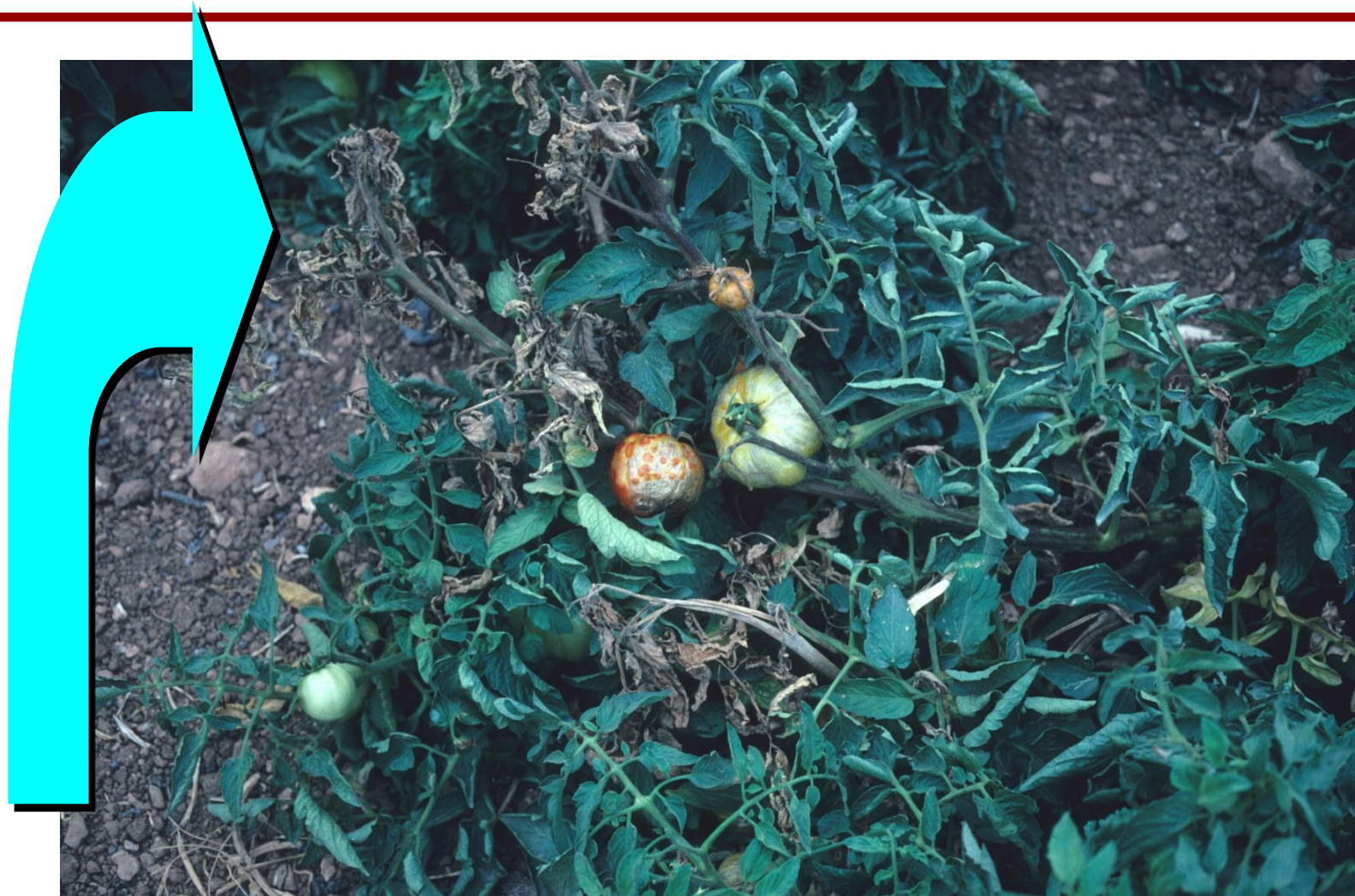
Tomato spotted wilt virus (TSWV)



ΤΣΩΝ/μαρούλι



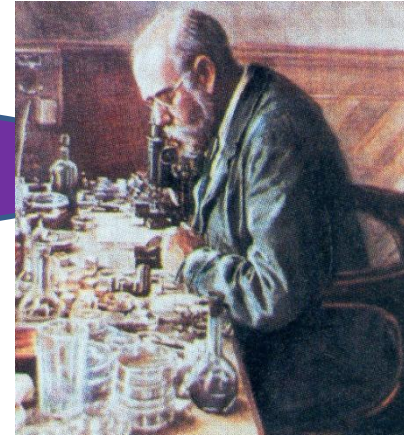
CMV-CARNA-5 (Νέκρωση της τομάτας)



Περιγραφή νέων ιολογικών ασθενειών

Αδυναμία ταυτοποίησης του ιού-παθογόνου αιτίου της
Ασθένειας;

Εφαρμογή Αρχών (κριτηρίων) του Koch



- Να απομονώνεται από τα ασθενή φυτά.
 - Με εξειδικευμένους φυτοδείκτες.
 - Φυσικοχημικές μεθόδους (καθαρισμός).
- Ταυτοποίηση (βιολογική, ορολογική, μοριακή).
- Να αναπαράγεται η ασθένεια μετά από μόλυνση υγιών φυτών.
- Επιβεβαίωση της παρουσίας (στον πειραματικό ξενιστή) και επανα-απομόνωση. **Robert Koch (1843-1910)**



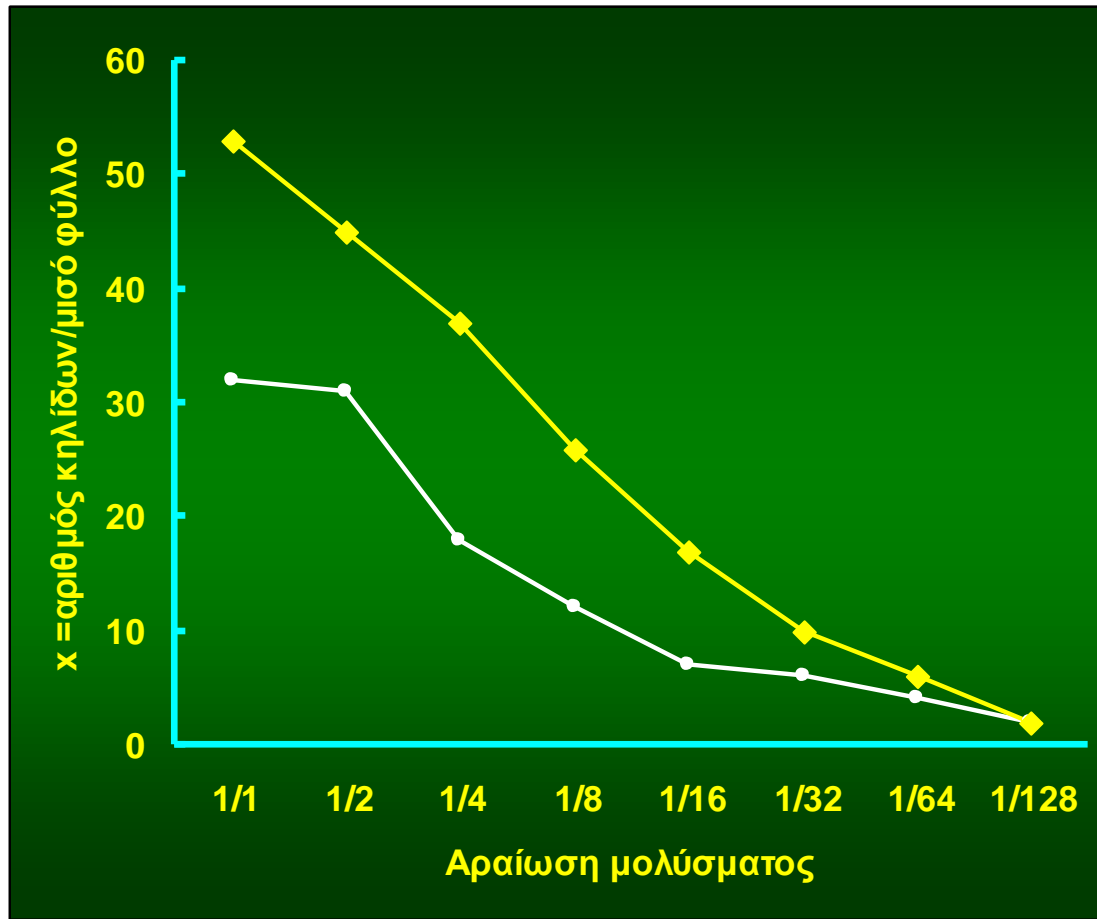
Ανίχνευση των ιών που προκαλούν νεκρωτικά συμπτώματα στους κονδύλους πατάτας

Έλεγχος 200 κονδύλων πατάτας με νεκρωτικά συμπτώματα.

1. Ορολογική ανίχνευση με πολυκλωνικά αντισώματα.
 - PVY; 100%, PVS; 50%.
 - PVX; 20%, PVM; 0%.
2. Μονοκλωνικά αντισώματα ειδικά στους
 - PVYNTN (νεκρωτικό στέλεχος); 100%.
 - PVYο (ήπιο στέλεχος); 3%.
 - PVYNTN είναι το παθογόνο αίτιο της νεκρωτικής ασθένειας των κονδύλων.



Holmes (1929): τοπικές κηλίδες/ταχεία ποσοτική εκτίμηση μολυσματικότητας των ιών



Smith (1931)

Φυτοδείκτες για διαχωρισμό ιών.

- Ασθένεια πατάτας: PVX+PVY.
- *Datura stramonium*:
 - Ευπαθές στον PVX.
 - Ευπαθές στον PVY.
- PVX: απομονώσεις από διάφορους ξενιστές διαφέρουν ως προς την παθογόνο δύναμη.



Beale's (1928)

Φυτά μολυσμένα με τον TMV περιέχουν ειδικό
αντιγόνο.



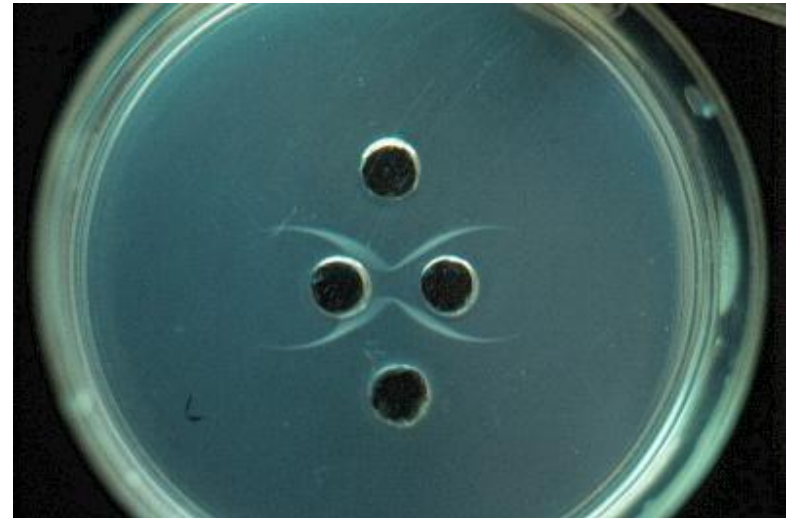
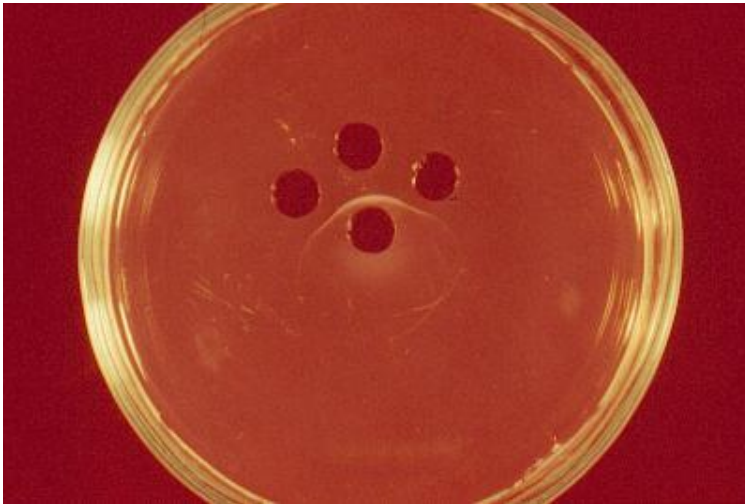
Gratia (1933)

Φυτά μολυσμένα με διαφορετικούς ιούς περιέχουν
διαφορετικά αντιγόνα.



Chester (1935, 1936)

Ορολογική διάκριση των ιών TMV και PVX.
Εκτίμηση του τίτλου (συγκέντρωσης) του ιού με
ορολογικές δοκιμές.





ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ



Καθαρισμός/Απομόνωση πρωτεϊνών

Καθαρισμός/Απομόνωση Πρωτεϊνών (1)

- Summer (1926): απομόνωση και **κρυσταλλοποίηση της ουρεάσης.**
- 1930-: προσπάθειες **απομόνωσης και καθαρισμού ιών** με παρόμοιες μεθόδους.
- Stanley (1935): **απομόνωση του TMV** σε κρυσταλλική μορφή (Nobel Ιατρικής).
- Stanley (1935, 1936): **TMV=γλοβουλίνη χωρίς φώσφορο.**



Καθαρισμός/Απομόνωση Πρωτεϊνών (2)

- Bawden et al. (1936): απομόνωσαν από φυτά μολυσμένα με τον TMV, **νουκλεοπρωτεΐνη με νουκλεϊκό οξύ τύπου πεντόζης.**
- TMV  **ραβδόμορφα ιοσωμάτια.**
- 1930-: Takahashi and Rawlins (1936): TMV = **ραβδόμορφα ιοσωμάτια** (ανισοτροπία ροής).
- Best (1937): TMV  **νουκλεοπρωτεΐνη.**



Καθαρισμός/Απομόνωση Πρωτεϊνών (3)

Ηλεκτρονική μικροσκοπία και κρυσταλλογραφία
ακτίνων Χ



Μελέτη της δομής των ιών

- Bernal and Fankuchen (1937): **ανάλυση με ακτίνες Χ καθαρού παρασκευάσματος του TMV.**

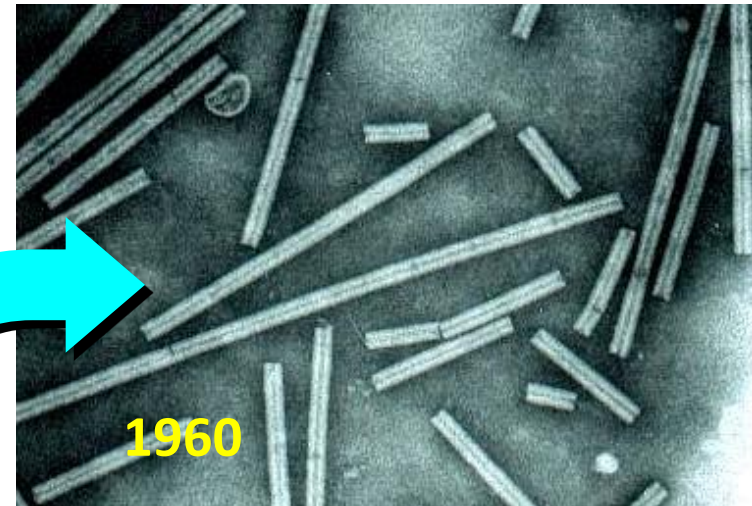


Εκτίμηση του πάχους των ραβδόμορφων ιοσωματίων.

- Kausche et al. (1936): Πρώτες **H.M. του TMV**
Ραβδόμορφα, **κατά προσέγγιση εκτίμηση διαστάσεων**
Μειονέκτημα: **έλλειψη αντίθεσης.**



Καθαρισμός/Απομόνωση Πρωτεϊνών (4)



Καθαρισμός/Απομόνωση Πρωτεϊνών (5)

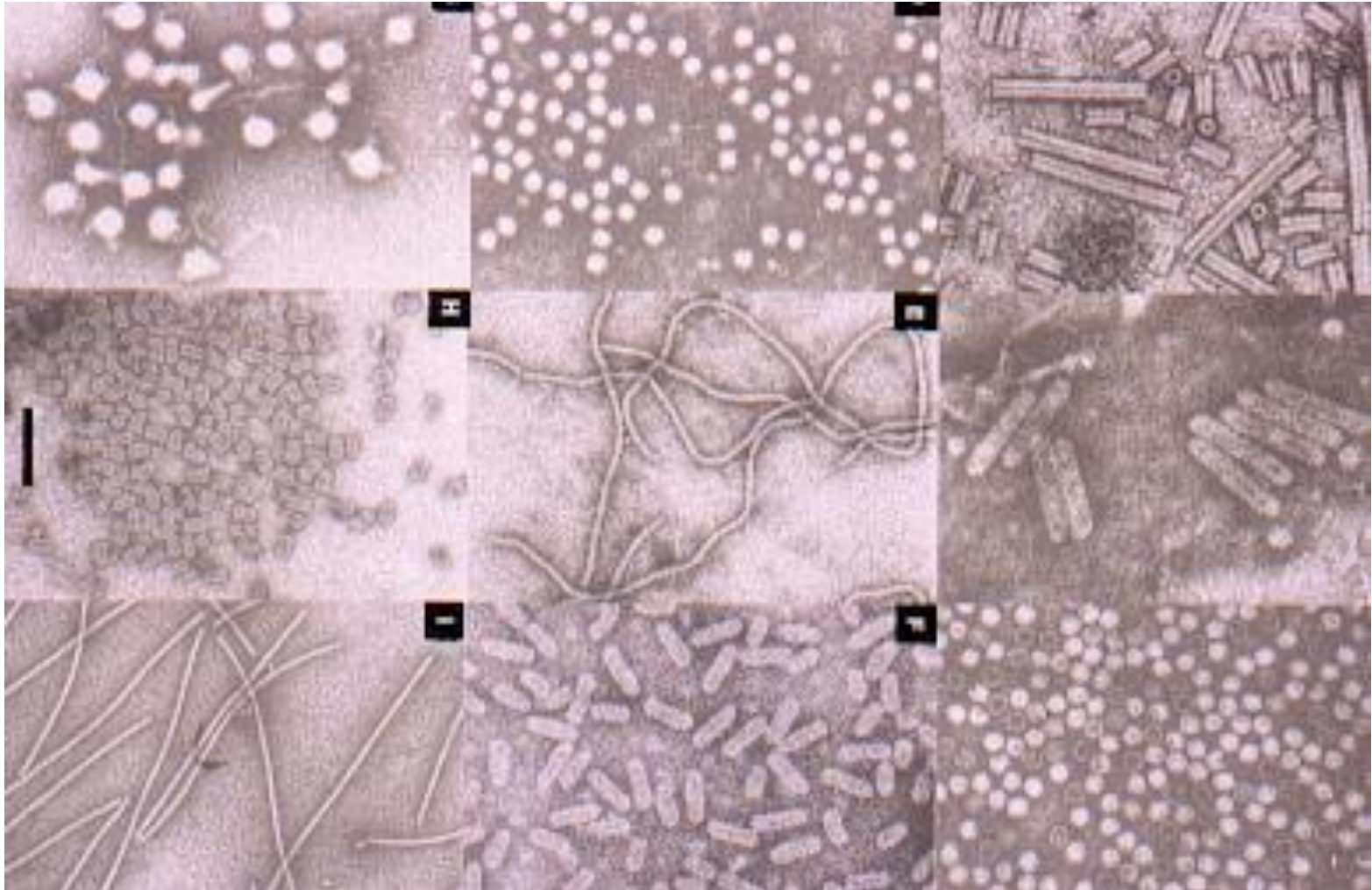
- Muller (1942): σκίαση με βαριά μέταλλα.
Βελτίωση της αντίθεσης, εκτίμηση διαστάσεων και σχήματος.

Μειονέκτημα: εξαιτίας της χρήσης βαρέων μετάλλων δύσκολη η παρατήρηση λεπτομερειών της δομής.

- 1950-: κατασκευή μικροσκοπίων υψηλής **ανάλυσης και ανάπτυξη μεθόδων αρνητικής χρώσης.**
- Markham (1951): **το RNA του ιού TYMV (κίτρινο μωσαϊκό του γογγυλιού) βρίσκονται στο εσωτερικό κέλυφος των πρωτεϊνών.**



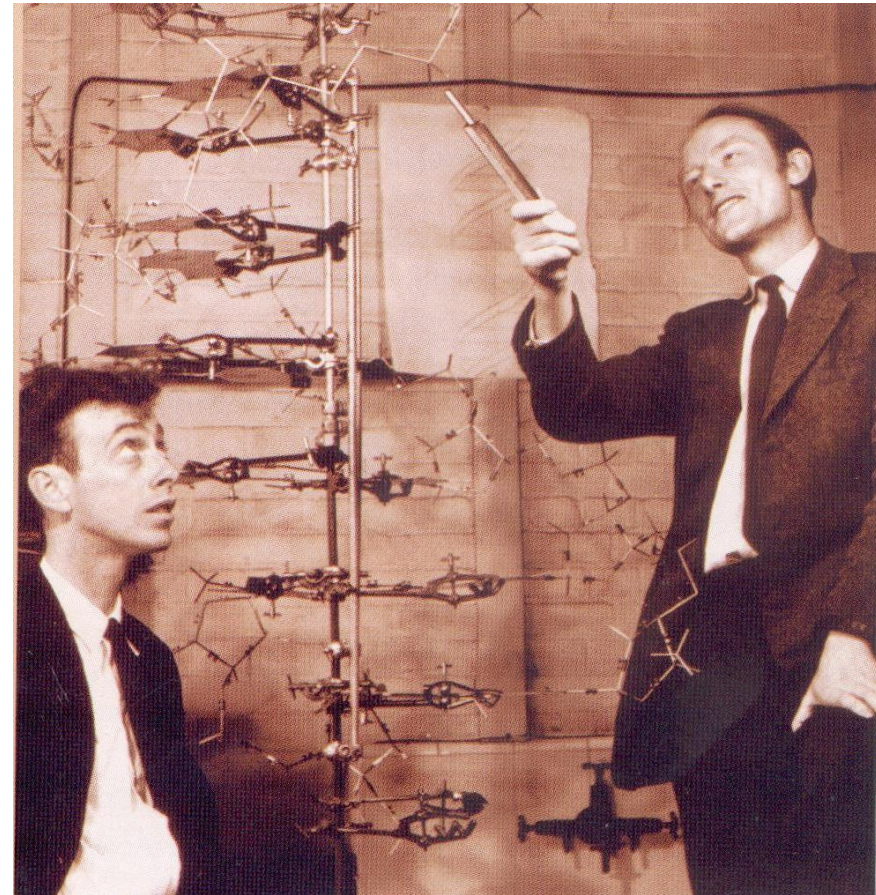
Συλλογή φωτογραφιών ιοσωματίων διαφόρων ιών στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο



Καθαρισμός/Απομόνωση Πρωτεϊνών (5)

Crick and Watson (1956):

- Το πρωτεϊνικό κέλυφος (περίβλημα) των ιών αποτελείται από ταυτόσημες υπομονάδες (αργότερα επιβεβαιώθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ).



Καθαρισμός/Απομόνωση Πρωτεϊνών (6)

- Caspar and Klug (1962): Θεωρία για τον αριθμό και τη **διευθέτηση των υπομονάδων** του περιβλήματος μικρών ισοδιαμετρικών ιών.
- -1948: **εστίαση στο πρωτεϊνικό περίβλημα των ιών** (υπερτερεί ποσοτικά).
- **Ένζυμα**= πρωτεΐνες, σημαντικές λειτουργίες στο κύτταρο.
- **Νουκλεϊκά οξέα τύπου πεντόζης**: γνώσεις περιορισμένες, άγνωστος ο ρόλος τους στο φυτικό κύτταρο.



Καθαρισμός/Απομόνωση Πρωτεϊνών (7)

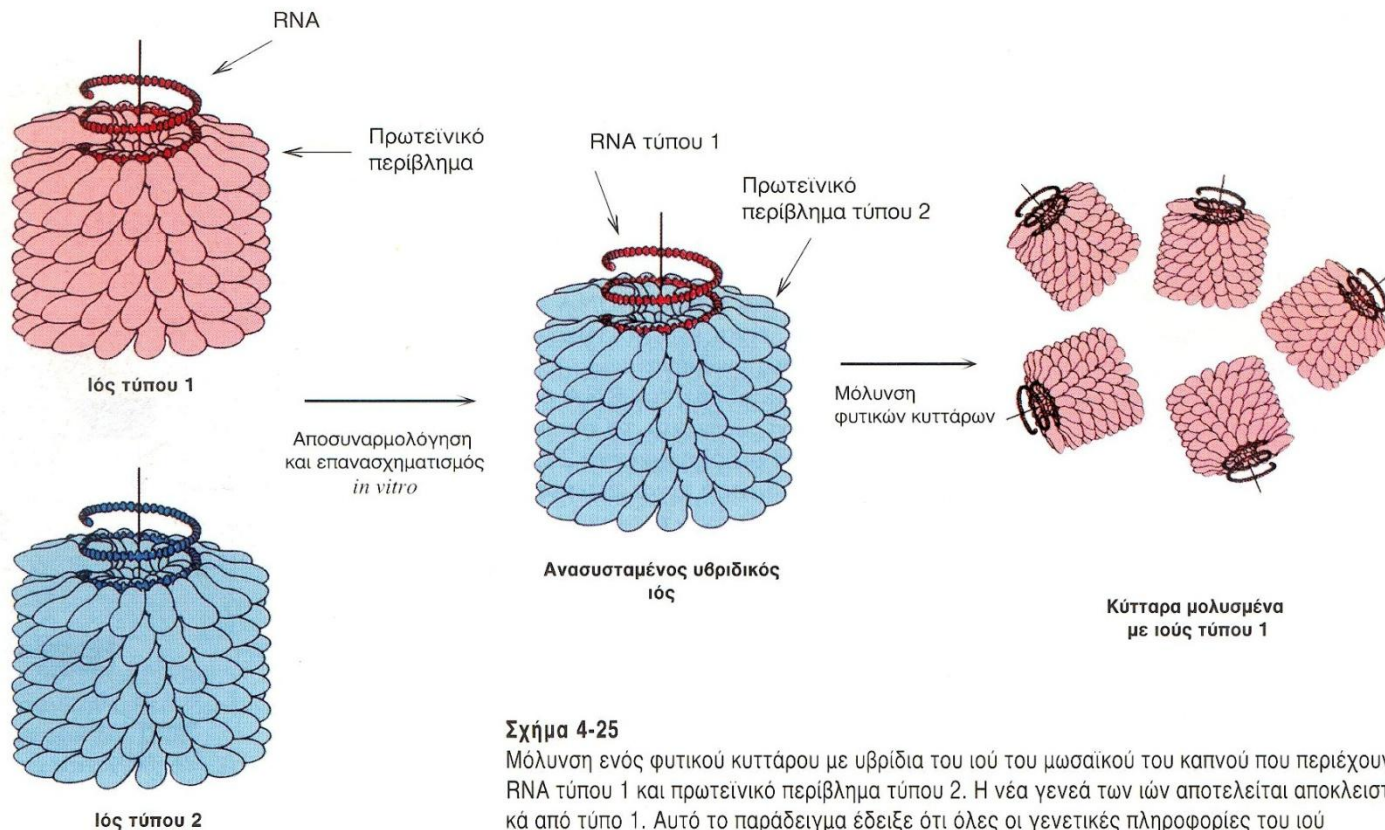
- Markham and Smith (1949): **απομόνωση του ΤΥΜΝ.**
- Δυο κλάσεις ιοσωματίων:
 - a. **μολυσματική νουκλεοπρωτεΐνη 35% RNA.**
 - b. **μη μολυσματική (μόνον πρωτεΐνη, όχι RNA).**



RNA: σημαντικό για τη βιολογική δραστηριότητα των ιών.



Μόλυνση ενός φυτικού κυττάρου με υβρίδια του ιού του μωσαϊκού του καπνού



Σχήμα 4-25

Μόλυνση ενός φυτικού κυττάρου με υβρίδια του ιού του μωσαϊκού του καπνού που περιέχουν RNA τύπου 1 και πρωτεϊνικό περίβλημα τύπου 2. Η νέα γενιά των ιών αποτελείται αποκλειστικά από τύπο 1. Αυτό το παράδειγμα έδειξε ότι όλες οι γενετικές πληροφορίες του ιού περιέχονται στο RNA του.



Καθαρισμός/Απομόνωση Πρωτεϊνών (8)

- Markham and Smith (1951): τα RNA διαφορετικών ιών διαφέρουν ως προς τη **σύνθεση των βάσεων**.
- RNA συγγενών ιών έχουν παρόμοια σύνθεση βάσεων.
- Hersley and Chase (1952): το DNA ενός βακτηριοφάγου του βακτηρίου *Escherichia coli* εισέρχεται στο κύτταρο, ενώ η πρωτεΐνη παραμένει εκτός.



Καθαρισμός/Απομόνωση Πρωτεϊνών (9)

- Harris and Knight (1952): ενζυματική απομάκρυνση της θρεονίνης (7%) δεν επηρέασε τη βιολογική δραστηριότητα.

Μόλυνση με αυτό το στέλεχος
έδωσε κανονικό ιό.



Καθαρισμός/Απομόνωση Πρωτεϊνών (10)

- Matthews (1953): 8 αζαγουανίνη γουανίνη

TMV, TYMV μικρότερης μολυσματικότητας.



RNA: σημαντικό για τη μολυσματικότητα

- Gerer and Schramm (1956), Fraenkel – Conrat and Williams (1955), Fraenkel – Conrat (1956)

Μολυσματικότητα γυμνού RNA του TMV
Προστατευτικός ρόλος της ΚΠ



Καθαρισμός/Απομόνωση Πρωτεϊνών (11)

- 1953: **αλληλουχία** αμινοξέων της ινσουλίνης (πρωτεΐνη). Anderer (1960): πλήρης **αλληλουχία** των 158 αμινοξέων της **ΚΠ** του **TMV**.

- Παγκόσμια φύση του γενετικού κώδικα.
- Κατανόηση της χημικής βάσης της.
- Ανάπτυξη μεθόδου για τον καθαρισμό (απομόνωση) ιών (Brakke, 1951, 52) μεταλλαγής.

- Κατανόηση των χημικών παραγόντων που επηρεάζουν τη σταθερότητα των ιών στα εκχυλίσματα.
- Απομόνωση και χαρακτηρισμός πολλών ιών.



Καθαρισμός/Απομόνωση Πρωτεϊνών (12)

- Lister (1966, 68): ανακάλυψη του διμερούς γονιδιώματος του TRV (RNA-1, RNA-2).



Ιοί με διηρημένο γένωμα.

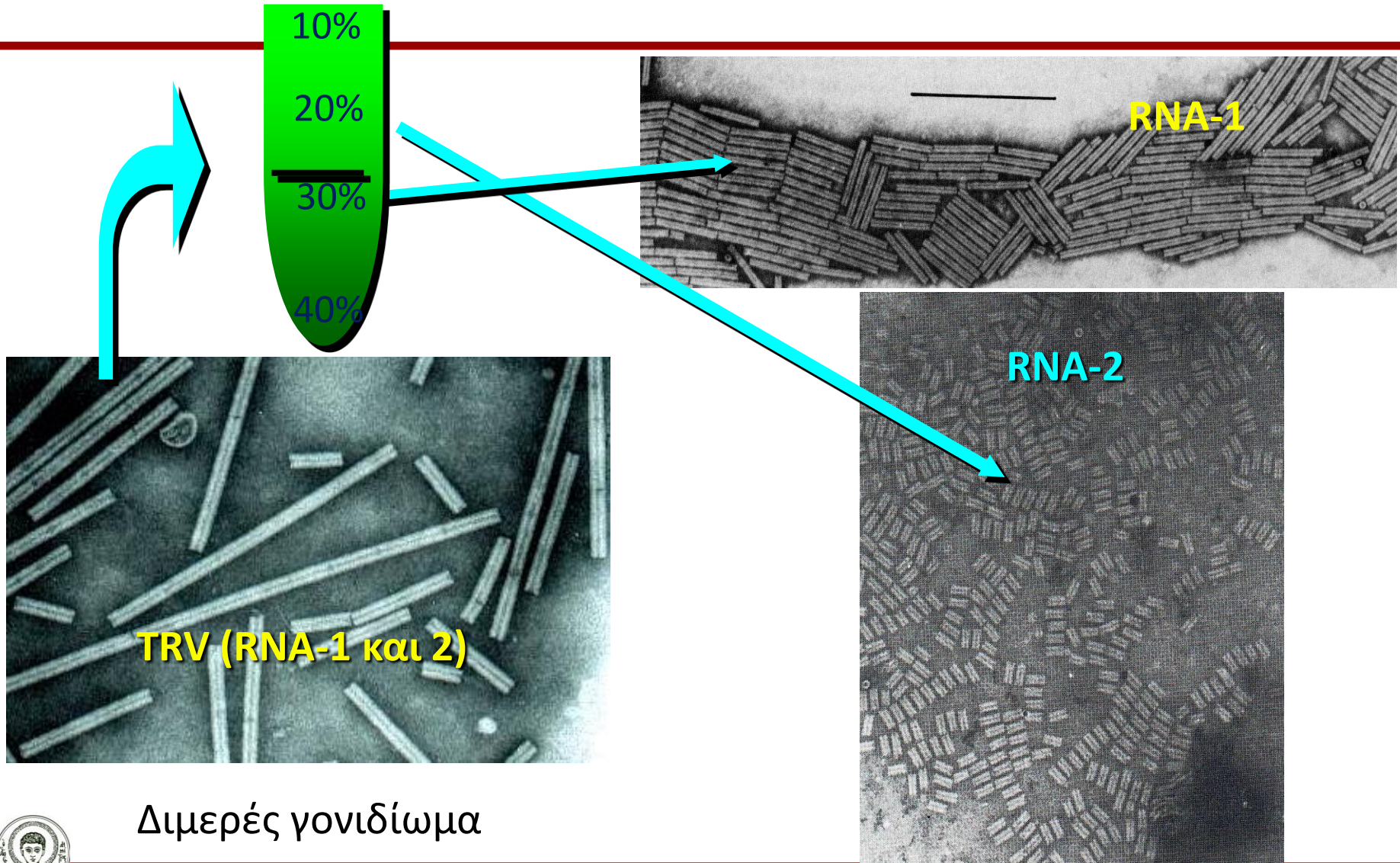


Πειράματα γενετικού ανασυνδυασμού με φυτικούς ιούς.

- Στήλες διαβάθμισης πυκνότητας.
Μη μολυσματικά σωματίδια νουκλεοπρωτεΐνης.
(υπογενωμικό RNA, sgRNA).
Δορυφορικοί ιοί ή δορυφορικά RNA's.



Βαθμίδωση Σακχαρόζης

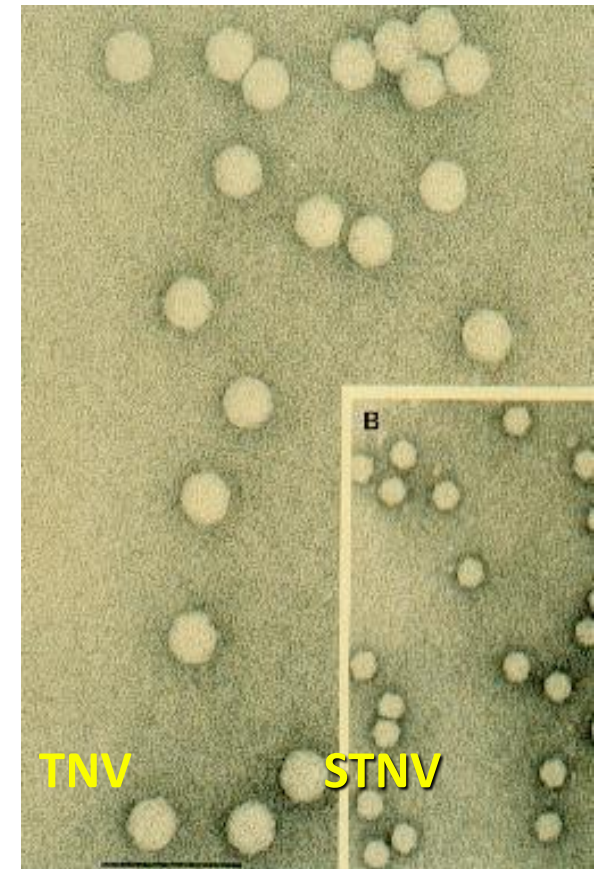
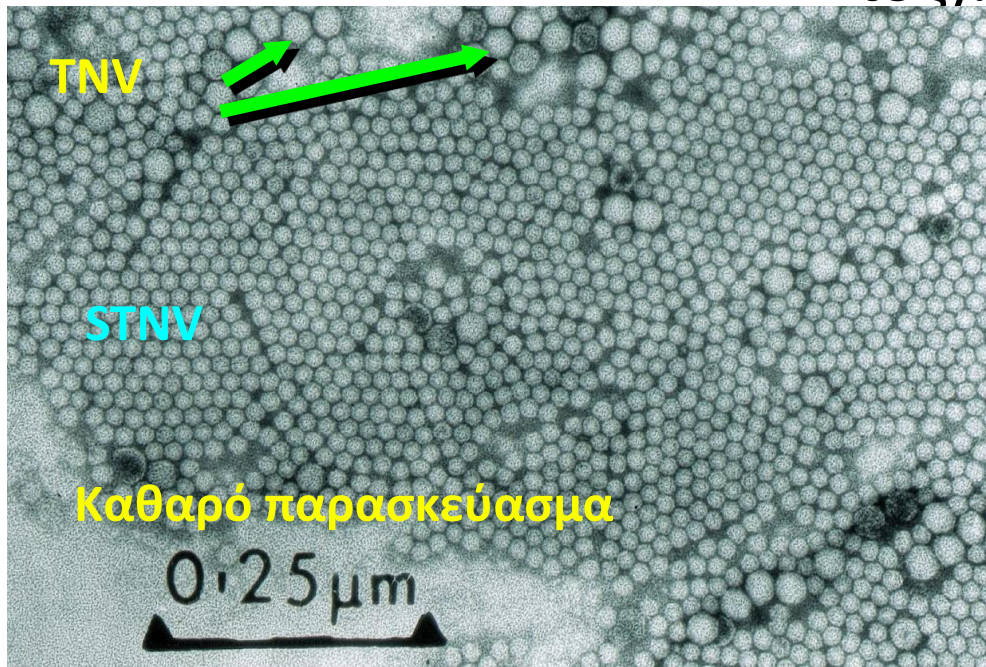


Διμερές γονιδίωμα



Δορυφορικοί ιοί (Kassanis, 1962)

Η αναπαραγωγή τους εξαρτάται από άλλον ιό (βοηθός ιός).



Καθαρισμός/Απομόνωση Πρωτεϊνών (13)

- 1960's: ηλεκτρονική μικροσκοπία:
- δομή ιών, βελτίωση μεθόδων κοπής υπέρλεπτων τομών, παρατήρηση ιοσωματίων κατευθείαν στα κύτταρα, εντοπισμός δομών ως αποτέλεσμα ιικών μολύνσεων.
- 1970's: κρυσταλλογραφικές αναλύσεις με ακτίνες Χ.



Καθαρισμός/Απομόνωση Πρωτεϊνών (14)

- Cocking (1966), Takebe et al. (1977):
- Ανάπτυξη συστήματος πρωτοπλαστών (τα κύτταρα μετά την ενζυμική αφαίρεση του κυτταρικού τοιχώματος) για μελέτη της διαδικασίας αναπαραγωγής των ιών.
- Ανάπτυξη συστήματος *in vitro* πρωτεϊνοσύνθεσης:
- Χαρτογράφηση γονιδιώματος φυτικών ιών.



Ανακάλυψη νέων φορέων των ιών

- **Νηματώδεις:** Μολυσματικός εκφυλισμός του αμπελιού (*Grapevine fanleaf virus, GFLV*) (Hewitt et al., 1958).
- **Μύκητες:** Ασθένεια των διογκωμένων νεύρων του μαρουλιού (Grogan et al., 1958).



1980s

- Ανάπτυξη βελτιωμένων μεθόδων διάγνωσης/ανίχνευσης.
- Κατανόηση της οργάνωσης του γονιδιώματος φυτικών ιών.
- Ανάπτυξη νέων μεθόδων αντιμετώπισης ιών.



Ανάπτυξη Μεθόδων Διάγνωσης

- **Ορολογικές Δοκιμές (ELISA)** (Clark Adams, 1977).
- **Μονοκλωνικά Αντισώματα (TMV)** (Dietzen and Sander, 1982).
- Μέθοδοι Υβριδοποίησης Νουκλεϊκών Οξέων.
- **Αλυσιδωτή Αντίδραση της Πολυμεράσης** (Polymerase Chain Reaction, PCR).





ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

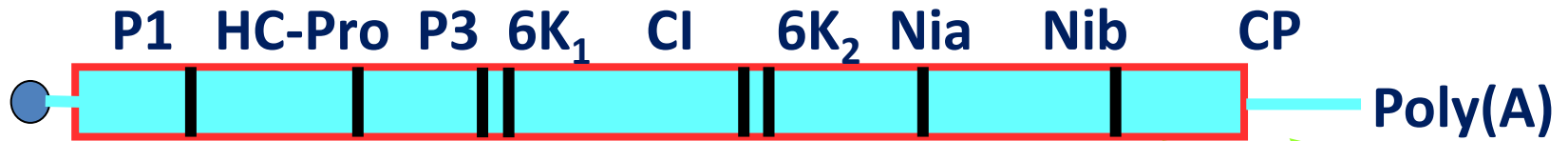
Αλληλουχία νουκλεοτιδίων

Πληροφορίες αλληλουχίας νουκλεοτιδίων (1)

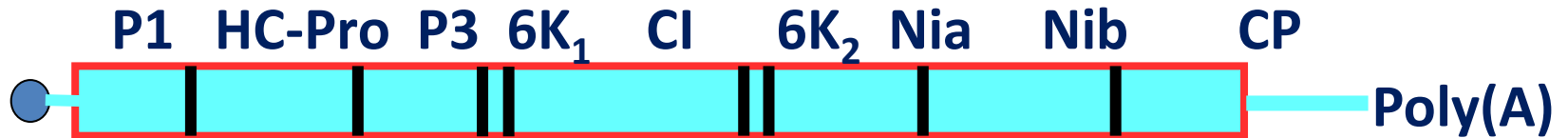
- **Εντοπισμός, αριθμός και μέγεθος** των γονιδίων διαφόρων ιικών γονιδιωμάτων.
- **Αλληλουχία αμινοξέων** πρωτεϊνών-προϊόντων γνωστών γονιδίων.
- **Μοριακοί μηχανισμοί μεταγραφής** των γονιδιακών προϊόντων.
- **Λειτουργίες** ενός γονιδιακού προϊόντος (από ομοιότητες αλληλουχιών αμινοξέων με προϊόντα γνωστών λειτουργιών άλλων ιών).



Αλληλουχία νουκλεοτιδίων



OYDV 283 βάσεις



LYSV 304 βάσεις



Πληροφορίες αλληλουχίας νουκλεοτιδίων (2)

- **Ταυτοποίηση αλληλουχιών** του γονιδιώματος που ρυθμίζει την έκφραση των γονιδίων και την αναπαραγωγή του γονιδιώματος.
- **Κατανόηση της δομής** και της **αναπαραγωγής** των ιοειδών και των δορυφορικών RNA.
- Τη **μοριακή βάση** της ποικιλότητας και της εξέλιξης των ιών (ανασυνδυασμός μεταξύ RNA ιών, «πρόσληψη» γονιδίων από άλλους ιούς ή φυτά-ξενιστές).
- **Ταξινόμηση των ιών** με βάση τις εξελικτικές τους σχέσεις.



Πληροφορίες αλληλουχίας νουκλεοτιδίων (3)

- Κατανόηση της οργάνωσης του **γονιδιώματος φυτικών ιών**.
- Γνώση ολόκληρης της **νουκλεοτιδικής αλληλουχίας των RNA ιών**.
- Δυνατότητα **προετοιμασίας μολυσματικών αντιγράφων RNA ιών** (από κλωνοποιημένο cDNA).



Ένας νέος ιός του γένους Closterovirus (1)

GLRaV 9GR

ACCTTTTCAACACTATGCTTTTCTGCTGGGAGAGGGCGTTGAAGGTTGTGTCCC
TGAGAGTGACACAATTTACATACCAACCGTGGTCGGTATCAGAAAAGATGGAA
CGTACACGATAGGTCT **GGGAGCGTTGTTGGAACC**AGACGTGATGGTGTACCG
AGACATCAAGAGGTATTTTGGTATGAACAAATTCAATGCTGAGACTTACAGGA
ACAAGCTGAAACCTAAGTTCGAAGTGATAGTGAAAGATTGGTCAGCTTACATT
GGACCAACTTCTGGAGAGAAAGGGAAGGCTAGAAGTGTCATAGCTTTGGCCT
GTATGTTTCGTATCGGCTTTGGCAAAAATGGCAGTTTCTATGACTGGGAATGCCG
TCACTCTG **TCTGTTTGTTCTGTGCCG**GCTGAATACAGCTCTTATATGAGAAATTT
CATCTTCCAAGGCTGTACTCTGGCAAAGATTATGGTTCAGGCTGTTGTGAACG
AACC



Ένας νέος ιός του γένους Closterovirus (2)

Ομολογία Νουκλεοτιδίων

GLRaV-5 (80%) GLRaV-4 (74%) GLRaV-6 (74%)

Ομολογία Αμινοξέων

GLRaV-5 (90%) GLRaV-4 (88%) GLRaV-6 (90%)



Άγνωστο δείγμα Νο 4

WU-blastn (1)

AF057136 RUPESTRIS STEM PITTING ASSOCIATED VIRUS-1,
AF026278 GRAPEVINE RUPESTRIS STEM PITTING ASSOCIATED VIRUS
ομοιότητες = (80-81%)



Άγνωστο δείγμα Νο 4

WU-blastn (2)

Query: 1 GCTGGGCAAACCCTTGCTTGCTTTCAACATGCAGTTTTGGTTCGTTTTGCTCCTTATATG
|||||

Sbjct: 5723 GCTGGGCAAACCCTTGCTTGCTTCCAACATGCTGTTCTGGTTCGCTTTGCACCCTATATG

Query: 61 AGGTACATTGAAAAGAAGCTCATGCAAGCTTTAAAACCGAATTTTACATTCACTCTGGT
||

Sbjct: 5783 AGATACATTGAGAAAAGCTAATGCAAGCTCTGAAGCCTAACTTCTACATCCATTCAAGGG

Query: 121 AAAGGTCTTGATGAACTTAATGAATGGGTAAAGCGCGAAACTTTACAGGCATTTGCACA
|||||

Sbjct: 5843

AAAGGTCTNGACGAGCTGAACGAGTGGGTCAGAACTAGAGGATTCACTGGAATTTGCACA

Query: 181 GAATCAGACTACGAAGCCTTTGA 203

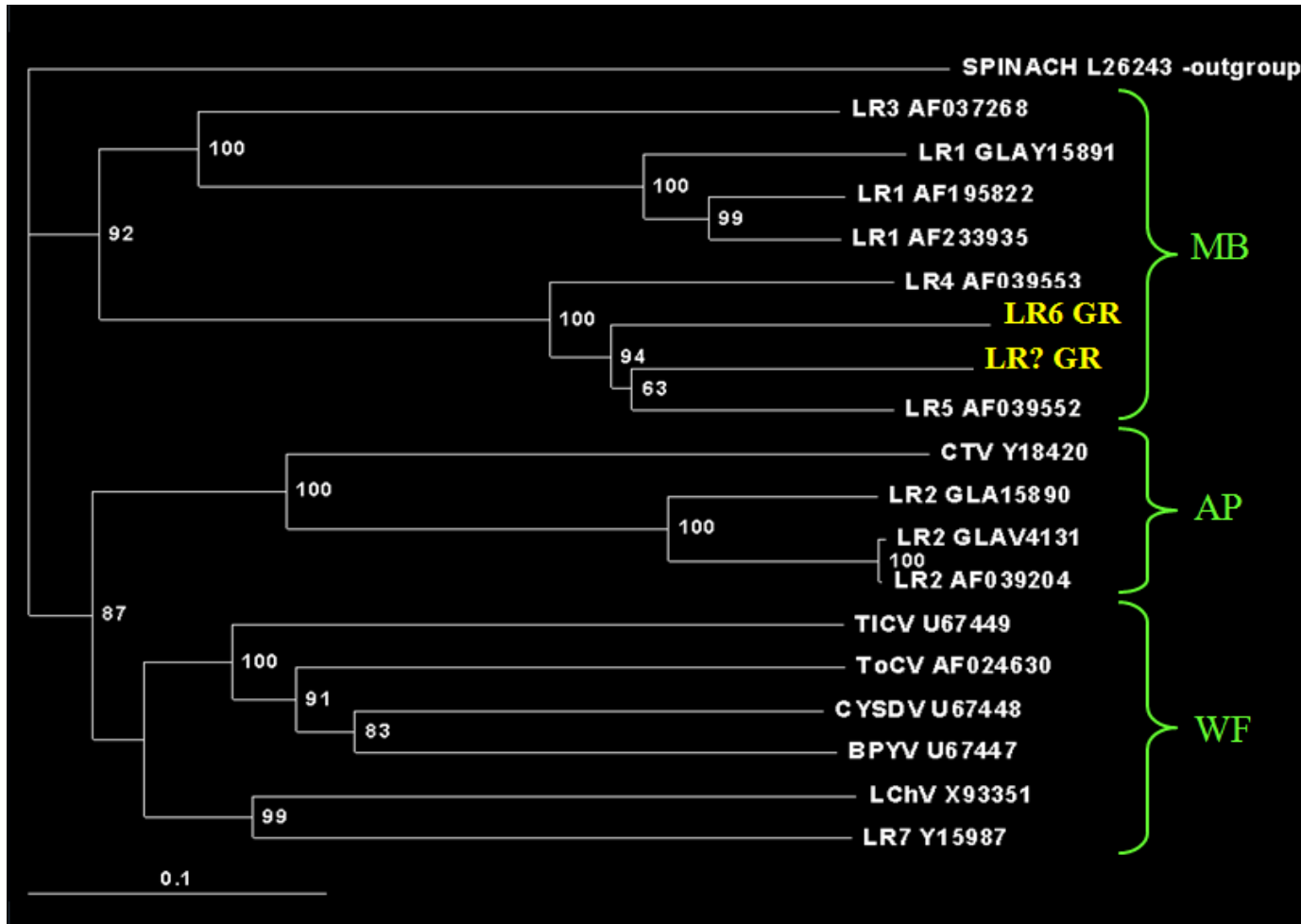
|||||

Sbjct: 5903 GAATCAGACTACGAAGCCTTTGA 5925

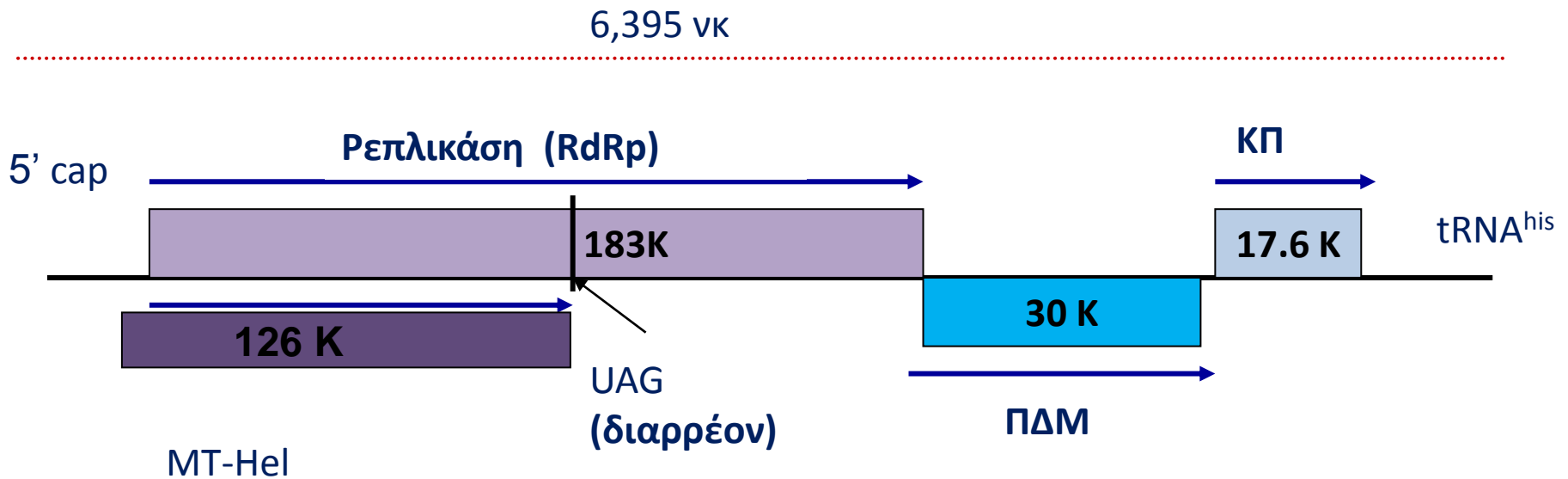


Άγνωστο δείγμα Νο 4

WU-blastn (3)



Οργάνωση γονιδιώματος του TMV





ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

Μέθοδοι αντιμετώπισης ιών

Συμβατικές Μέθοδοι Αντιμετώπισης των Ιών (1)

Αρχές του αιώνα: αρκετά δύσκολη.

- **Λήψη Μέτρων Υγιεινής** (απομάκρυνση ασθενών φυτών: εκρίζωση ασθενειών, περιορισμός).
- **Αναζήτηση ανθεκτικών ποικιλιών.**
- Παραγωγή Πιστοποιημένου Πολλαπλασιαστικού υλικού (θερμοθεραπεία, καλλιέργεια ακραίων μεριστωμάτων).
Προγράμματα Πιστοποίησης ΠΥ: πατάτα, Δεντρώδη, Άμπελος.



Συμβατικές Μέθοδοι Αντιμετώπισης των Ιών (2)

- Καταπολέμηση των εντόμων-φορέων (**διασυστηματικά εντομοκτόνα**): αντιμετώπιση έμμονων ιών.
- Προεμβολιασμός των Φυτών με ήπια στελέχη ιών (**Σταυροειδής Προστασία**).
Εφαρμογές: ΤοMV, CTV, ZYMV.



Σύγχρονες Μέθοδοι Αντιμετώπισης των Ιών

Παράκαμψη των δυσκολιών της σταυροειδούς προστασίας

- Έκφραση ιικών γονιδίων σε φυτά (Powell-Abel et al., 1986): κατασκευή φυτών καπνού στα οποία εκφράζεται η ΚΠ του TMV.

Γενετική Μηχανική (τεχνολογία ανασυνδυασμένου DNA).

Νέα εποχή στην αντιμετώπιση των ιών;



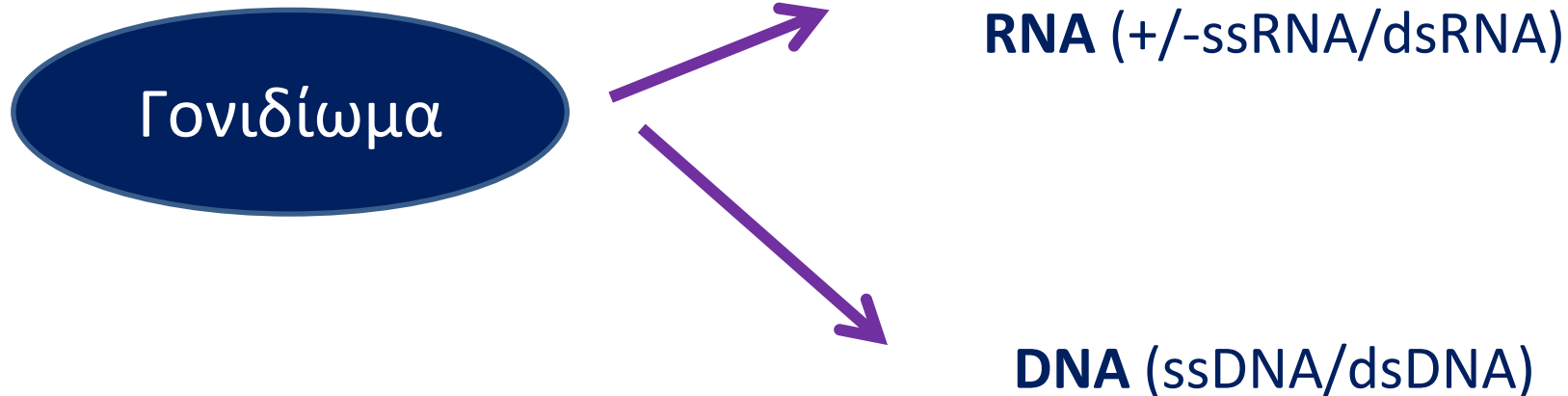
Ερευνητικές προκλήσεις για το μέλλον

- **Μοριακή κατανόηση του τρόπου πρόκλησης ασθενειών στα φυτά (αλληλεπίδραση ικών μακρομορίων, πρωτεϊνών και νουκλεϊκών οξέων και της δομής μακρομορίων του ξενιστή).**



Μορφή και Δομή Ιών

- Το γονιδίωμα των ιών περιβάλλεται από ένα πρωτεϊνικό περίβλημα (καψιδιακή πρωτεΐνη).



Κατανομή των τεσσάρων βασικών τύπων των νουκλεϊκών οξέων μεταξύ των βακτηρίων των φυτών και των ζώων

Τύπος νουκλεϊκού οξέος	Ιοί Βακτηρίων	Ιοί Φυτών	Ιοί Ζώων
Μονόκλωνο DNA	Όχι τόσο κοινό (στους <i>Microviridae</i> και <i>Inoviridae</i>)	Σπάνιο (μόνο στους <i>Geminivirida</i>)	Σπάνιο (μόνο στους <i>Parvoviridae</i>)
Δίκλωνο DNA	Πολύ κοινό	Σπάνιο (μόνο στους <i>Caulimoviride</i>)	Κοινό
Μονόκλωνο RNA	Μόνο στους <i>Leviviridae</i>	Πολύ κοινός τύπος	Κοινό
Δίκλωνο RNA	Σπάνιο (μόνο στους <i>Cystoviridae</i>)	Μόνο στους <i>Reoviridae</i> και στους ιούς των μυκήτων	Κοινό



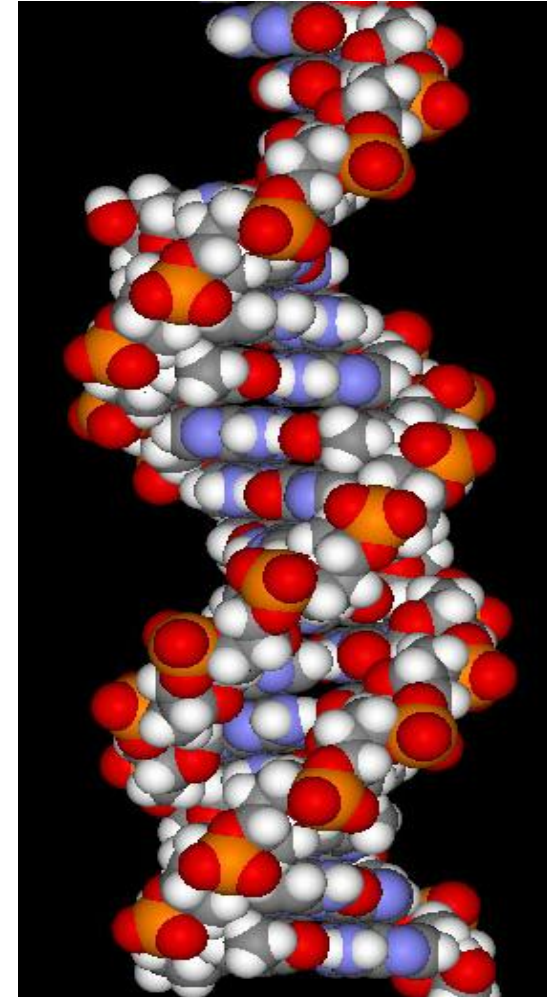
Φυτικοί ιοί με RNA και DNA γονιδίωμα

Τύπος νουκλεϊκού οξέος	Αριθμός ιών	Ποσοστό (%)
(+) RNA	484	76,6
(-) RNA	22	13,0
ds RNA	27	4,3
ss DNA	26	4,1
ds DNA	13	2,0

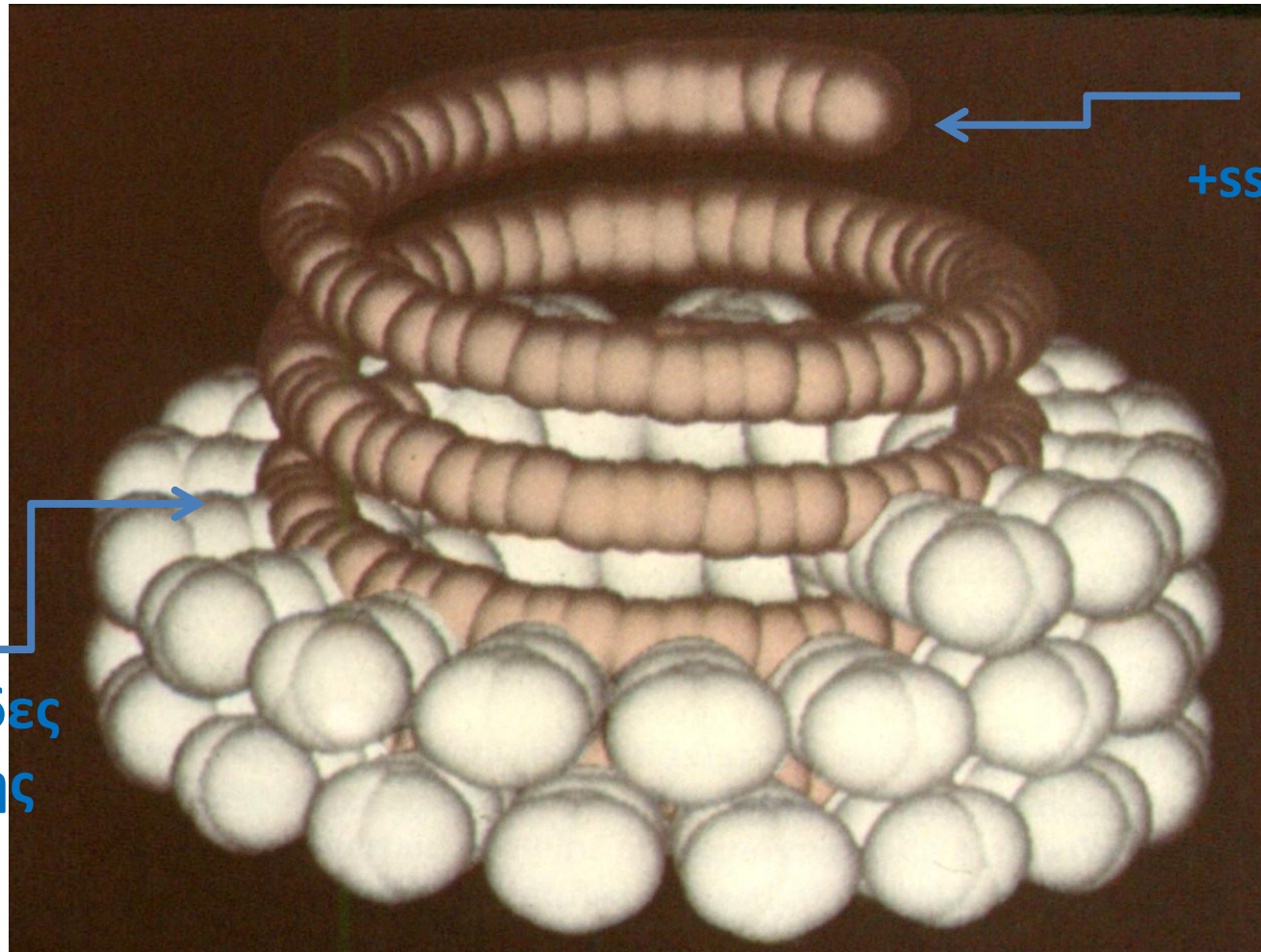


Νουκλεϊκά οξέα φυτικών ιών

- ss RNA ιοί:
(+) RNA, *Tobacco mosaic virus*.
(-) RNA, *Tomato spotted wilt virus*.
- ds RNA ιοί:
Rice fiji disease virus.
- ds DNA ιοί:
Cauliflower mosaic virus.
- ss DNA ιοί:
Tomato yellow leaf curl virus.



Δομή του ιού του μωσαϊκού του καπνού



+ssRNA

Υπομονάδες
πρωτεΐνης



Χαρακτηριστικά της δομής του TMV

Καψίδιο



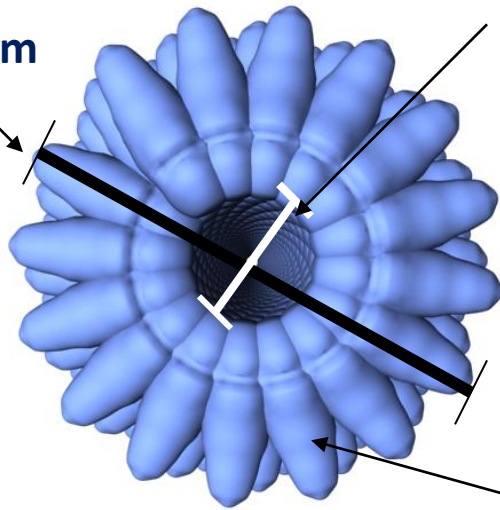
Ελικοειδή συμμετρία

30 nm

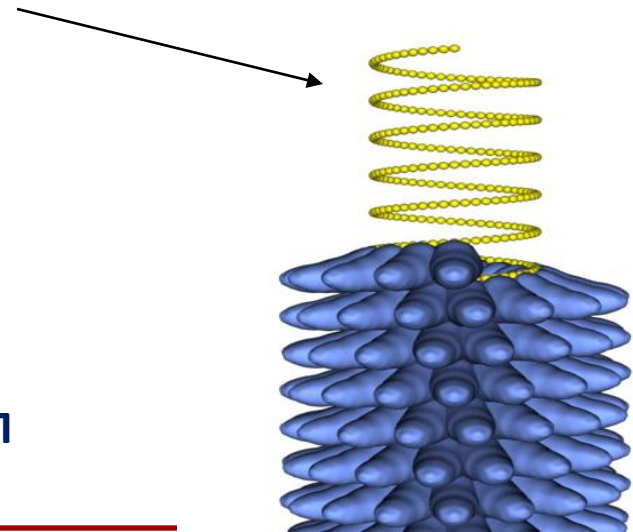
18 nm

2 nm

RNA Γονιδίωμα



Υπομονάδες ΚΠ



Μορφολογία του TMV

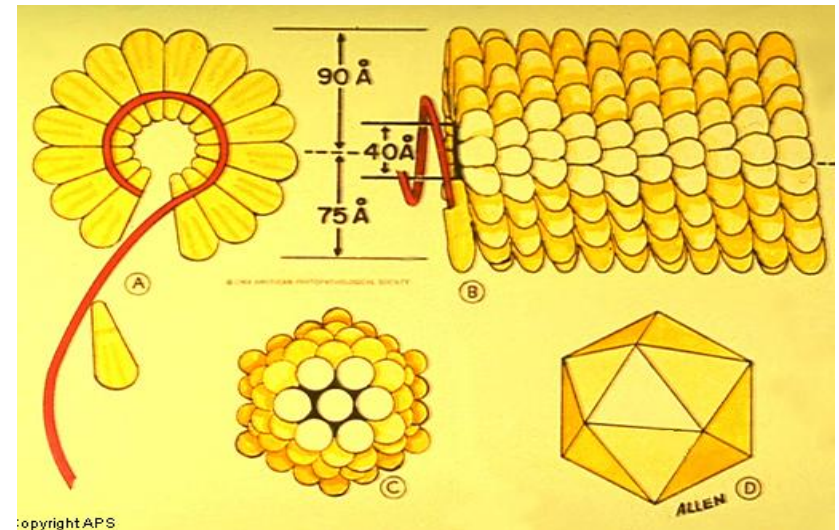
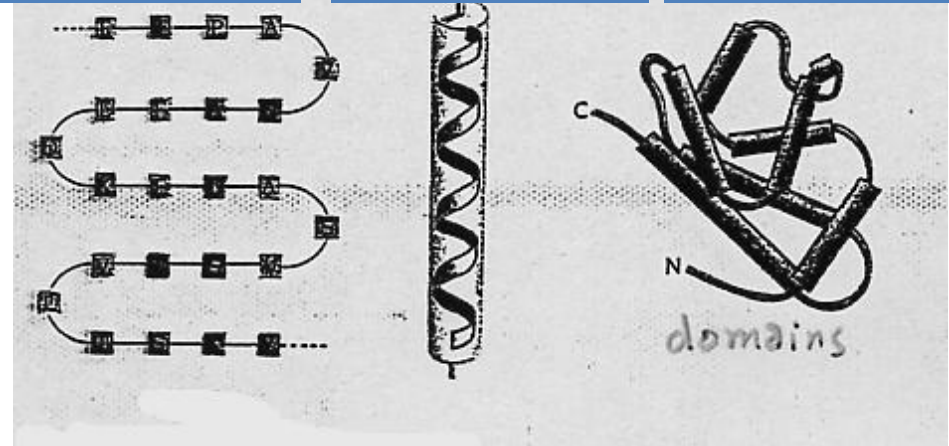
Υπομονάδες Πρωτεΐνης



Πρωτοταγής

Δευτεροταγής

Τριτοταγής

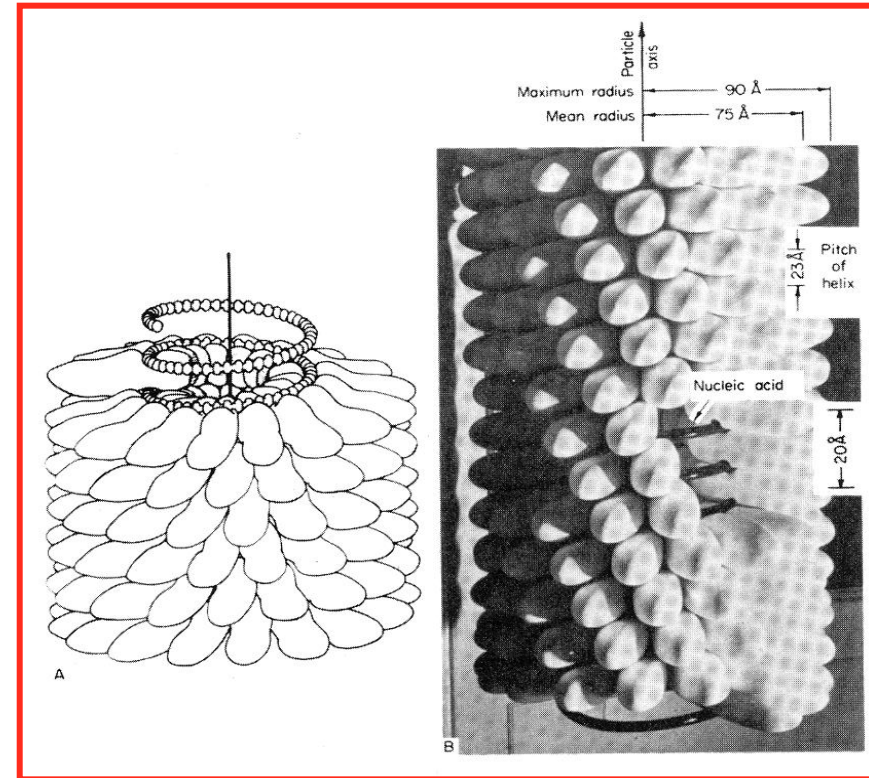
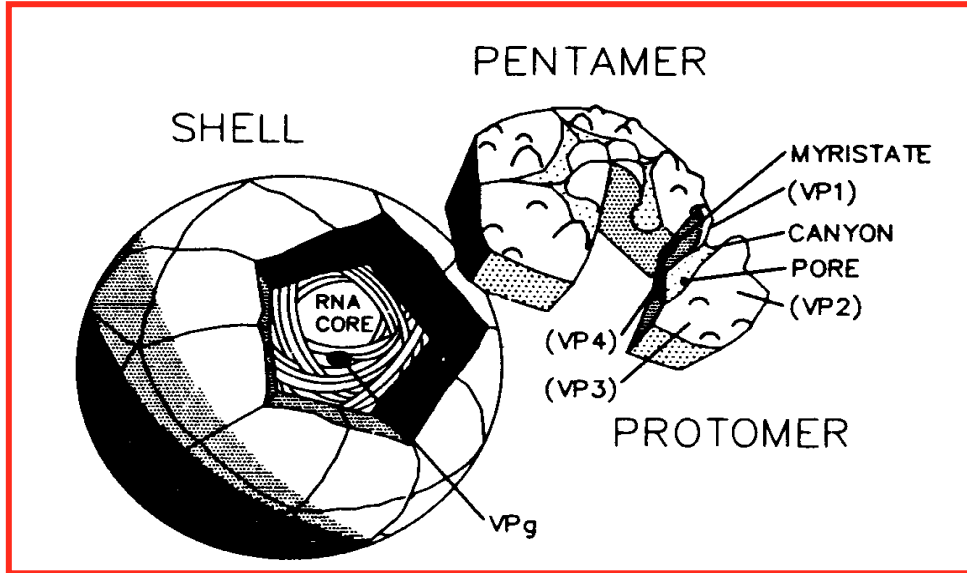


Copyright APS

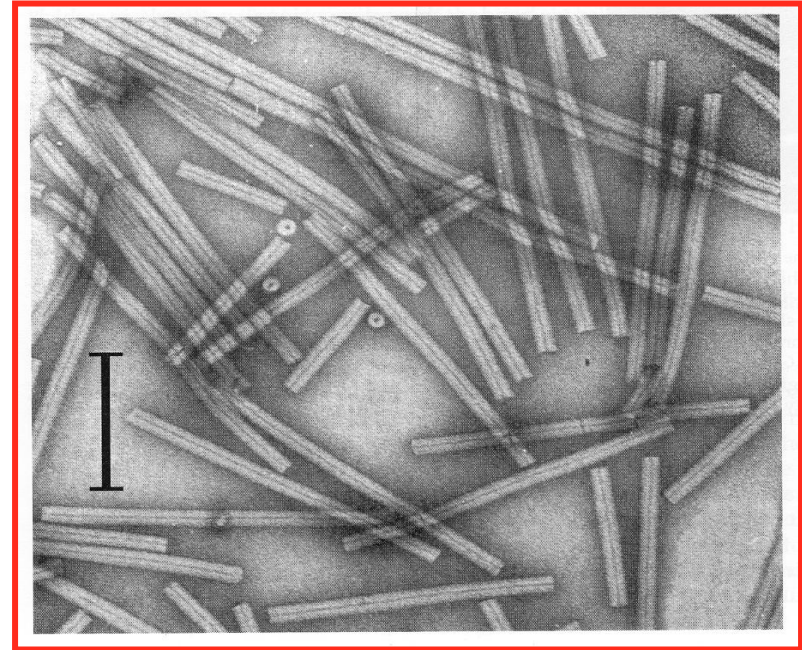
ALLEN



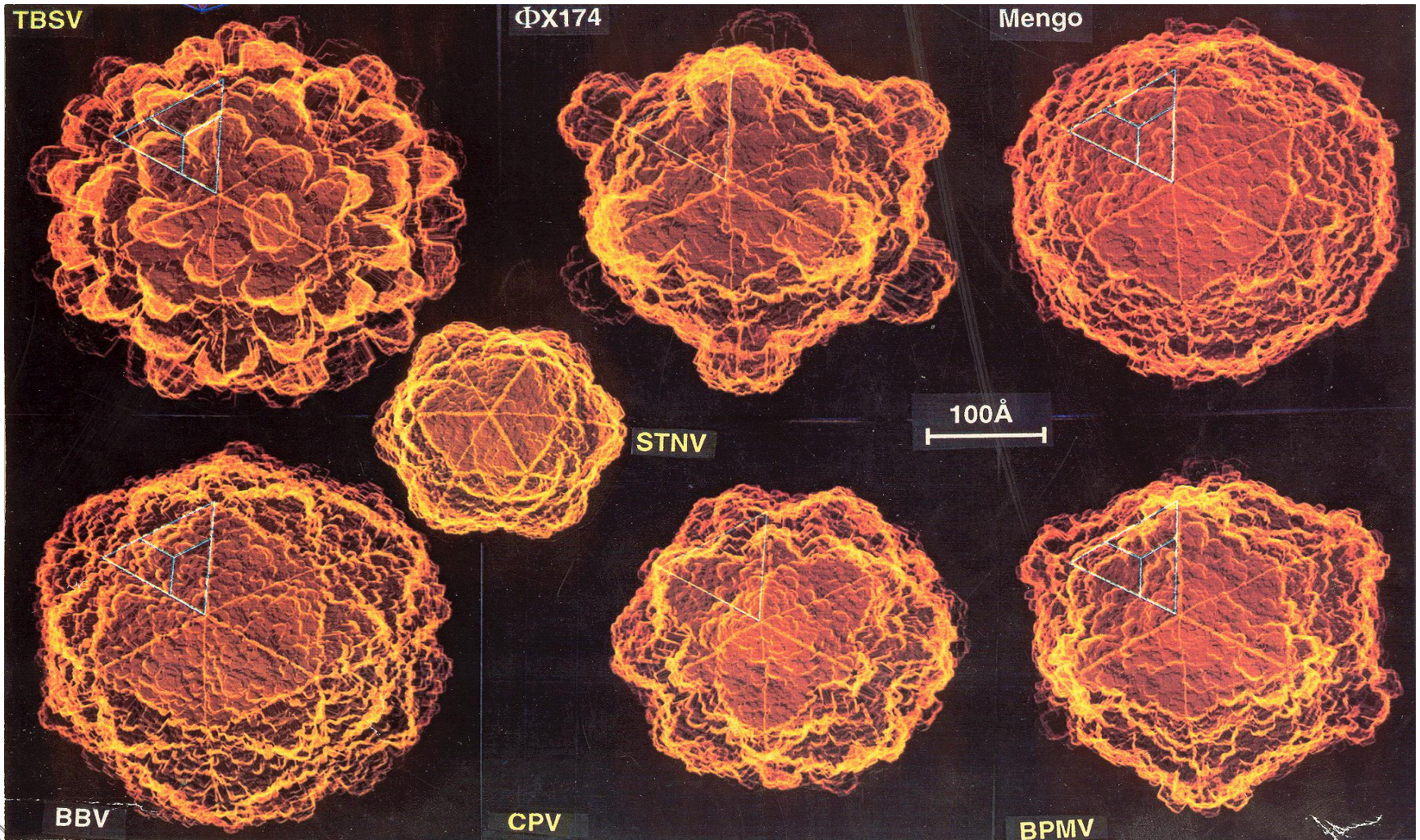
Ιοσωμάτια (virions) αποτελούνται από νουκλεϊκό οξύ και την ΚΠ



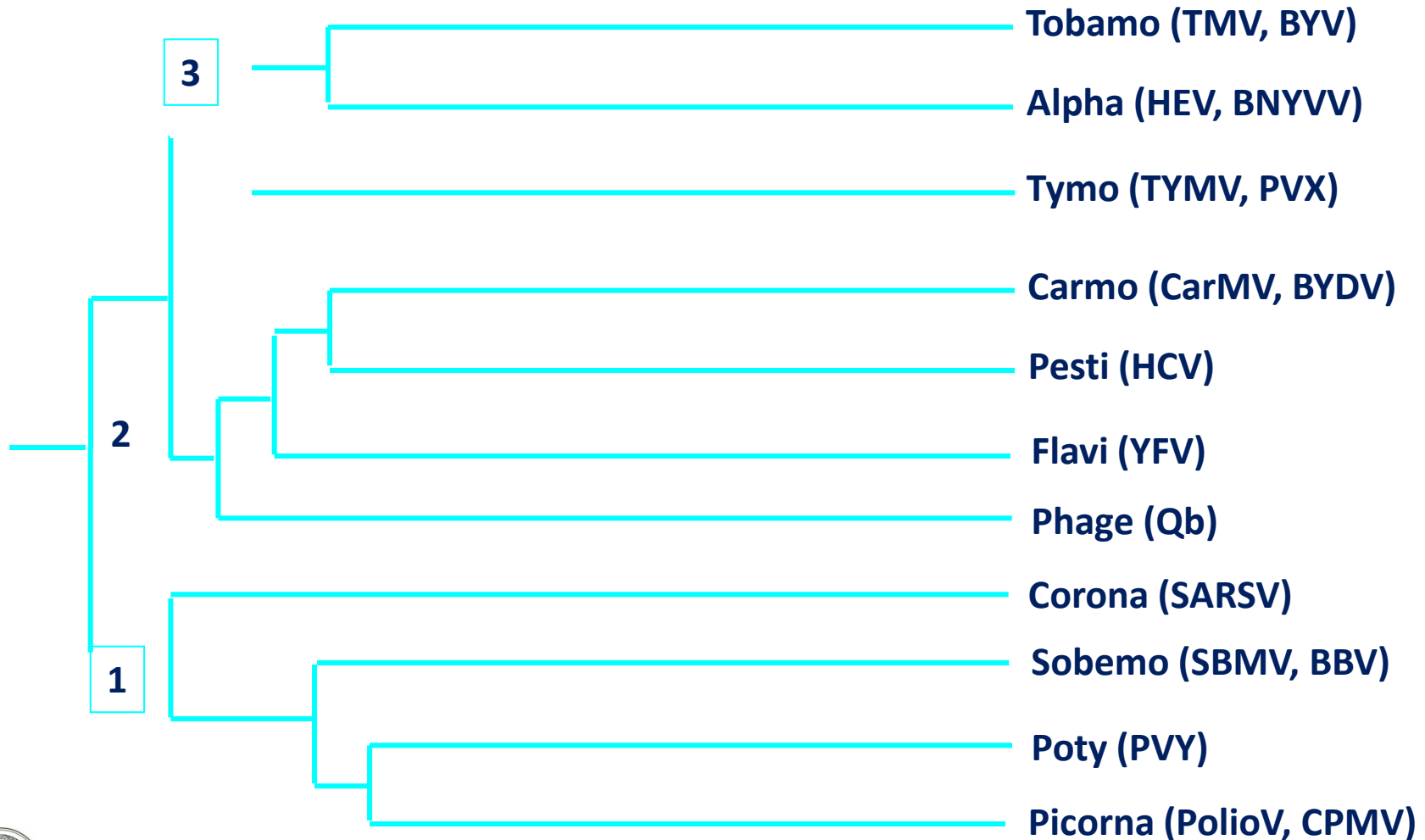
Τα ιοσωμάτια στο ΗΜ



Κοινά χαρακτηριστικά των εικοσαεδρικών virions



Κοινή προέλευση των +ssRNA που προσβάλλουν φυτά και ζώα



Περιεκτικότητα ορισμένων ιών σε πρωτεΐνη και νουκλεϊκό οξύ

Ιός	Νουκλεϊκό οξύ (%)	Πρωτεΐνη (%)	Διαστάσεις (σε nm)
Μωσαϊκό του καπνού	5	95	300 x 18
Ιός Χ της πατάτας	5-7	93-95	515 x 13
Ιός Υ της πατάτας	5	95	730 x 11
Ίκτερος των τεύτλων	5	95	1250 x 10
Μωσαϊκό του κουνουπιδιού	17	83	50
Μωσαϊκό της μαυροφασολιάς	23, 34	77, 66	24



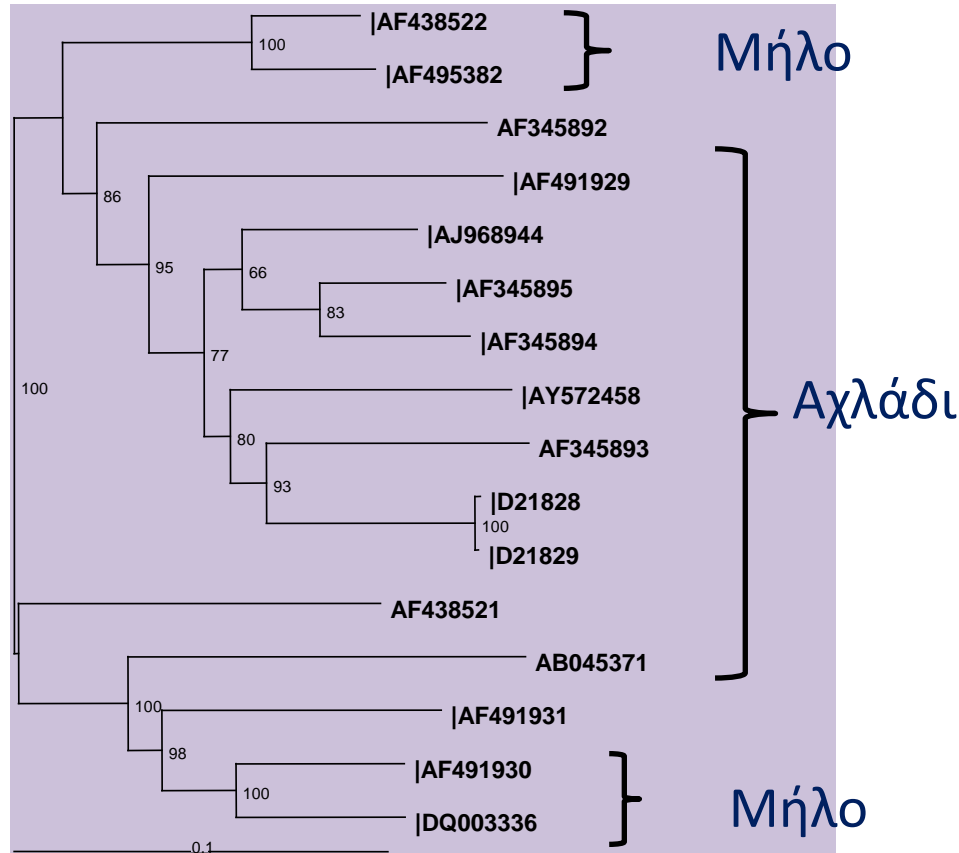
Βιοποικιλότητα (παραλλακτικότητα) ιών

Nothing makes sense in biology except in the
light of evolution.

Dobzhansky, 1964



Γενετική παραλλακτικότητα του ASPV



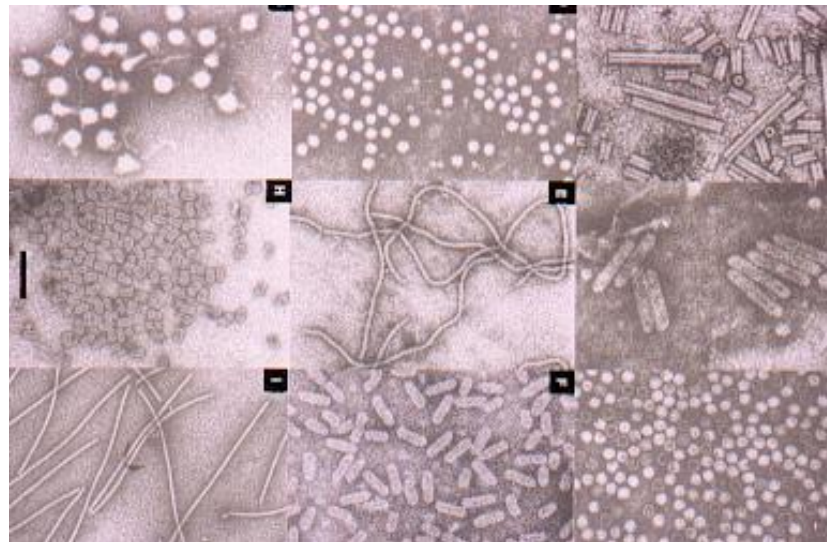
Με βάση τις υπάρχουσες δημοσιευμένες αλληλουχίες της ΚΠ παρατηρείται μια ομαδοποίηση των απομονώσεων σε 3 ομάδες ανάλογα με το ξενιστή.



Μορφολογία Ιών

- Ισοδιαμετρικοί (17-110 nm).
- Βληματομόρφοι (-300nmΧ95 nm).
- Ραβδόμορφοι/νηματοειδείς (114-215 nmΧ 23 nm, -2000 nmΧ 10 nm).

Ιοί




Γονιδίωμα

- Μονομερές.
- Διμερές.
- Τριμερές.
- Πολυμερές.



Γονιδίωμα

ΚΠ + νουκλεϊκό οξύ = ιοσωμάτιο

ΚΠ (αποτελείται από παρόμοιες υπομονάδες)  Καψομερή



Virion, το άθικτο μολυσματικό ιοσωμάτιο

- Μονομερές = ένας τύπος ιοσωματίων.
- Πολυσυστατικοί: (διηρημένο γονιδίωμα).
 - Όλα απαραίτητα για την πρόκληση ασθένειας.
 - Διαφορετικού μήκους ραβδόμορφα ιοσωμάτια.
 - Ιοσωμάτια διαφορετικής πυκνότητας.
 - Διμερές = 2 τύποι ιοσωματίων.
 - Τριμερές = 3 τύποι ιοσωματίων.





ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

Ιοί με διηρημένο γονιδίωμα

Ιοί με διηρημένο γονιδίωμα (1)

- Όλα τα τμήματα του γονιδιώματος απαραίτητα για τη μόλυνση.
- TRV: μόλυνση με τα μακρύτερα ιοσωμάτια οδηγεί στη μόλυνση, τα μικρά περιέχουν το γονίδιο της ΚΠ (μετάδοση με τους νηματώδεις).

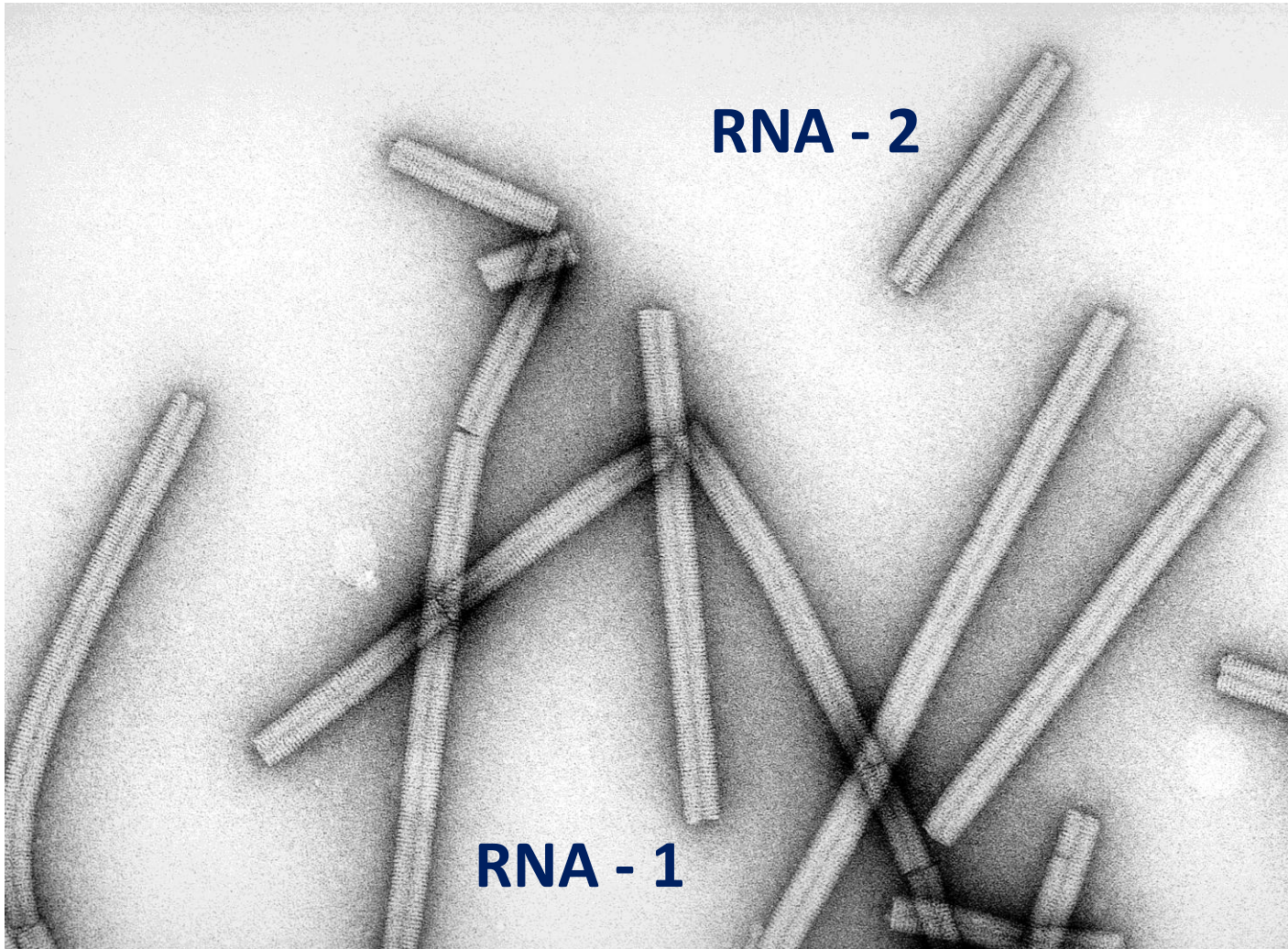


Ιοί με διηρημένο γονιδίωμα (2)

- Η πιθανότητα επιτυχούς μόλυνσης ενός πολυσυστατικού ιού (Alfamonivirus, Cucumovirus) μικρότερη από αυτή των ιών με μονομερές γονιδίωμα.
- AMV (Bromoviridae) : τριμερές γονιδίωμα, για τη μόλυνση απαραίτητα τα RNA1-3 +mRNA της ΚΠ (Τα ιοσωμάτια).



Ιοί με διηρημένο γονιδίωμα (3)



Ιικές πρωτεΐνες (1)

- Όλοι οι ιοί έχουν γονίδια που κωδικοποιούν τις τρεις πρώτες.
- Μερικοί ιοί κωδικοποιούν και άλλες πρωτεΐνες.



Ιικές πρωτεΐνες (2)

Πρωτεΐνη	Λειτουργία
α) Ρεπλικάση (πολυμεράση)	Αντιγραφή νουκλεϊκών οξέων (NO)
β) Πρωτεΐνη διακυτταρικής μετακίνησης (ΠΔΜ)	Διακυτταρική και διασυστηματική μετακίνηση
γ) Καψιδιακή πρωτεΐνη	Προστασία ιικού NO στο κύτταρο του ξενιστή
δ) Ελικάση	Ξετύλιγμα DNA
ε) Πρωτεΐνες πρόσληψης εντομομεταδιδόμενων ιών	Μετάδοση με φορείς



RNA γένωμα του TMV

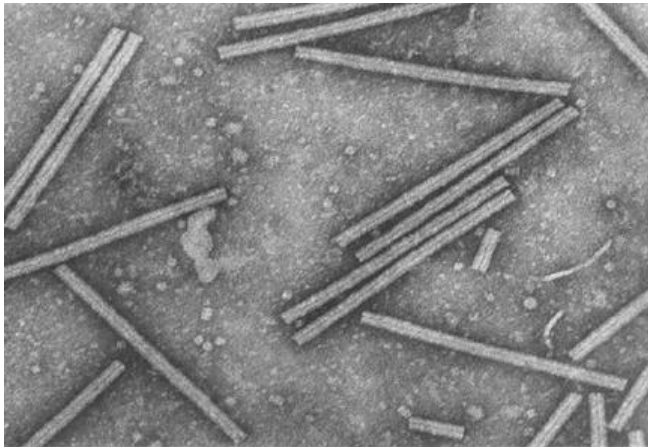
- Περίπου 6,400 νουκλεοτίδια, τρία γονίδια, και τρεις βασικές λειτουργίες.

RNA Αναπαραγωγή (πολυμεράση)

Καψιδίωση RNA (ΚΠ)



Διακυτταρική Μετακίνηση (ΠΔΜ)



Καψιδιακή πρωτεΐνη (1)

- Αποτελείται από επαναλαμβανόμενες υπομονάδες, σταθερές για κάθε ιό.
- TMV: 158 αμινοξέα, διευθετημένα ελικοειδώς
 - Διάμετρος 18 nm.
 - Διάμετρος κεντρικής οπής 4 nm.
- NO πακεταρισμένα σφιχτά μεταξύ των ελίκων.
- Τα NO των πολυεδρικών ιών είναι διπλωμένα με άγνωστο τρόπο μέσα στο virion (ιοσωμάτιο).



Καψιδιακή πρωτεΐνη (2)

- Προστατεύει το ΝΟ.
- Παίζει ρόλο στη μετάδοση με τους φορείς.
- Επηρεάζει τη συμπτωματολογία.
- Επιδρά στη συγκρότηση των ιοσωματίων (δομική πρωτεΐνη).
- Έγκλειστα σωμάτια.





ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

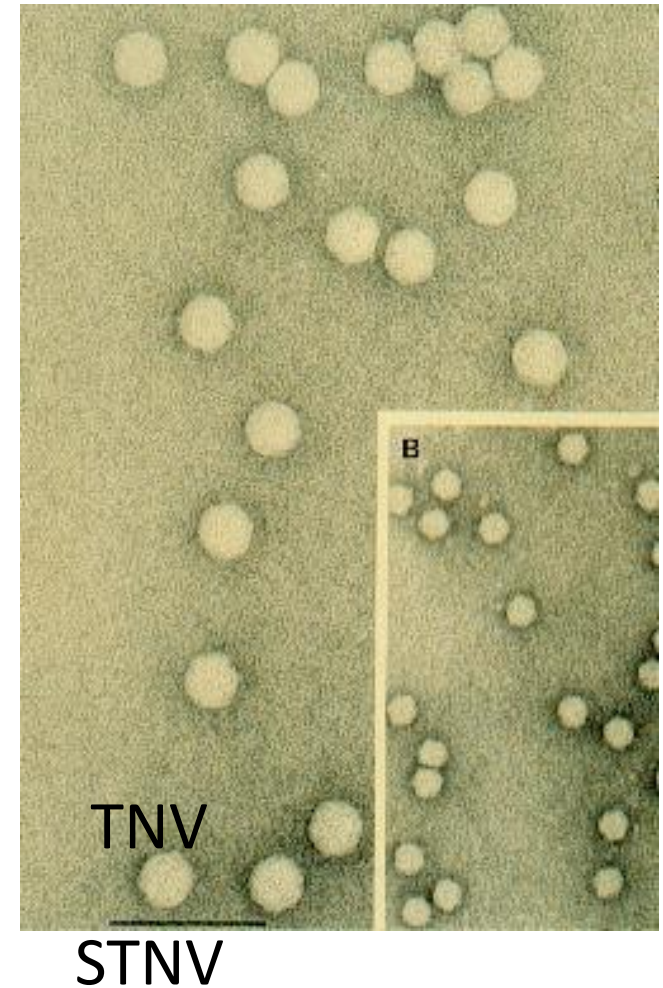
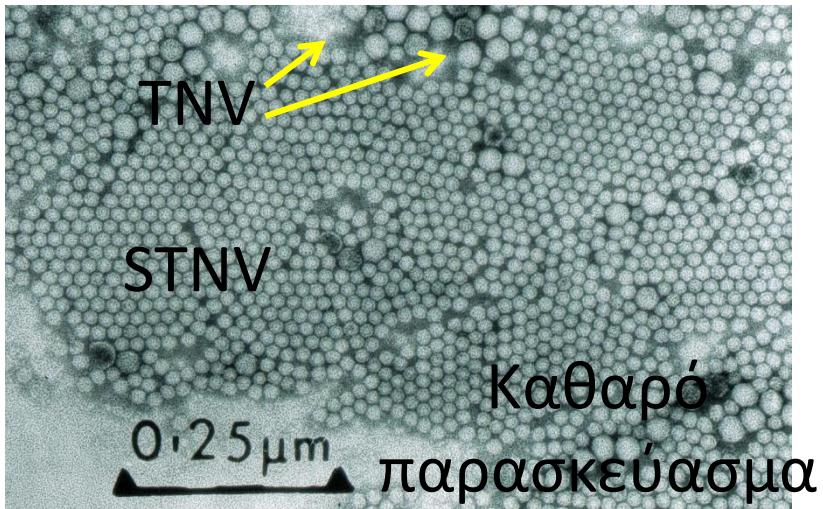
Δορυφορικοί ιοί

Δορυφορικοί ιοί ή Δορυφορικά RNA

- Έχουν εντοπιστεί μόνο σε φυτά μολυσμένα με φυτικούς ιούς.
- > 30 ιοί που ανήκουν σε διαφορετικά γένη ή οικογένειες (Roosinck et.al., 1992).



Δορυφορικοί ιοί (1)



Δορυφορικοί ιοί (2)

- Ένας μικρός σφαιρικός ιός (STNV, 17 nm).
- Πάντοτε σε μικτές προσβολές με τον ιό της νέκρωσης του καπνού (*Tobacco necrosis virus*, TNV).
- Το γονιδίωμα είναι διαφορετικό από αυτό του βοηθού ιού.
- Έχουν μικρό μέγεθος και κωδικοποιούν ένα μόνον γονίδιο.
- Δεν είναι μολυσματικά από μόνα τους.
- Προέλευση δ ιών: άγνωστη.



Δορυφορικοί ιοί (3)

- Αλληλεπιδρούν με την αναπαραγωγή του βοηθού ιού.
- Συνήθως μειώνουν τον τίτλο του βοηθού ιού και την ένταση των συμπτωμάτων.
- Μεταδίδονται με τον ίδιο φορέα (*O. brassicae* για τον STNV).
- Δεν διαθέτουν πολυμεράση αλλά κωδικοποιούν την ΚΠ.
- Κάθε δορυφορικός ιός «συνοδεύει» έναν βοηθό ιό που εξασφαλίζει την αναπαραγωγή του.



Δορυφορικοί ιοί (4)

- Μόρια ssRNA (300- 350 νκ) τα οποία αναπαράγονται στα κύτταρα του ξενιστή μόνο παρουσία ενός «βοηθού» ιού.
- π.χ. CMV-RNA5 ή CARNA 5.



Δορυφορικό RNA CMV: CARNA 5

- Δεν απαιτείται για την αναπαραγωγή του βοηθού ιού (CMV).
- Η αναπαραγωγή του εξαρτάται από το βοηθό ιό.
- Είναι **πακεταρισμένο** μαζί με το **γενωμικό** RNA του CMV (μεταδίδεται με αφίδες όπως και ο CMV).
- Παράγεται σε διάφορες ποσότητες στους διάφορους ξενιστές.
- Ορισμένοι συνδυασμοί CMV+CARNA5 επηρεάζουν τη συμπτωματολογία του CMV (πιο ήπια, έντονη νεκρωτική).



Κοινές ιδιότητες δ-ιών και δRNA

- Το γενετικό υλικό είναι ένα μικρού μεγέθους μόριο. Το NO δεν είναι μέρος του γονιδιώματος του βοηθού ιού και συνήθως έχουν ελάχιστη ομολογία.
- Η **αναπαραγωγή** τους εξαρτάται από ένα **συγκεκριμένο βοηθό ιό**.
- **Επηρεάζουν** τα συμπτώματα της ασθένειας, τουλάχιστον σε **ορισμένους ξενιστές**.
- Η αναπαραγωγή του δορυφορικού (**ιού ή RNA**) **επιδρά σε κάποιο βαθμό** στην αναπαραγωγή του βοηθού ιού.
- Οι δορυφορικοί (**ιοί ή RNA**) αναπαράγονται με μήτρα το δικό τους NO.



Συμπτώματα CMV και CMV+CARNA-5 σε φυτά τομάτας

Συμπτώματα CMV σε φυτά
τομάτας



Συμπτώματα CMV+CARNA-5 σε
φυτά τομάτας



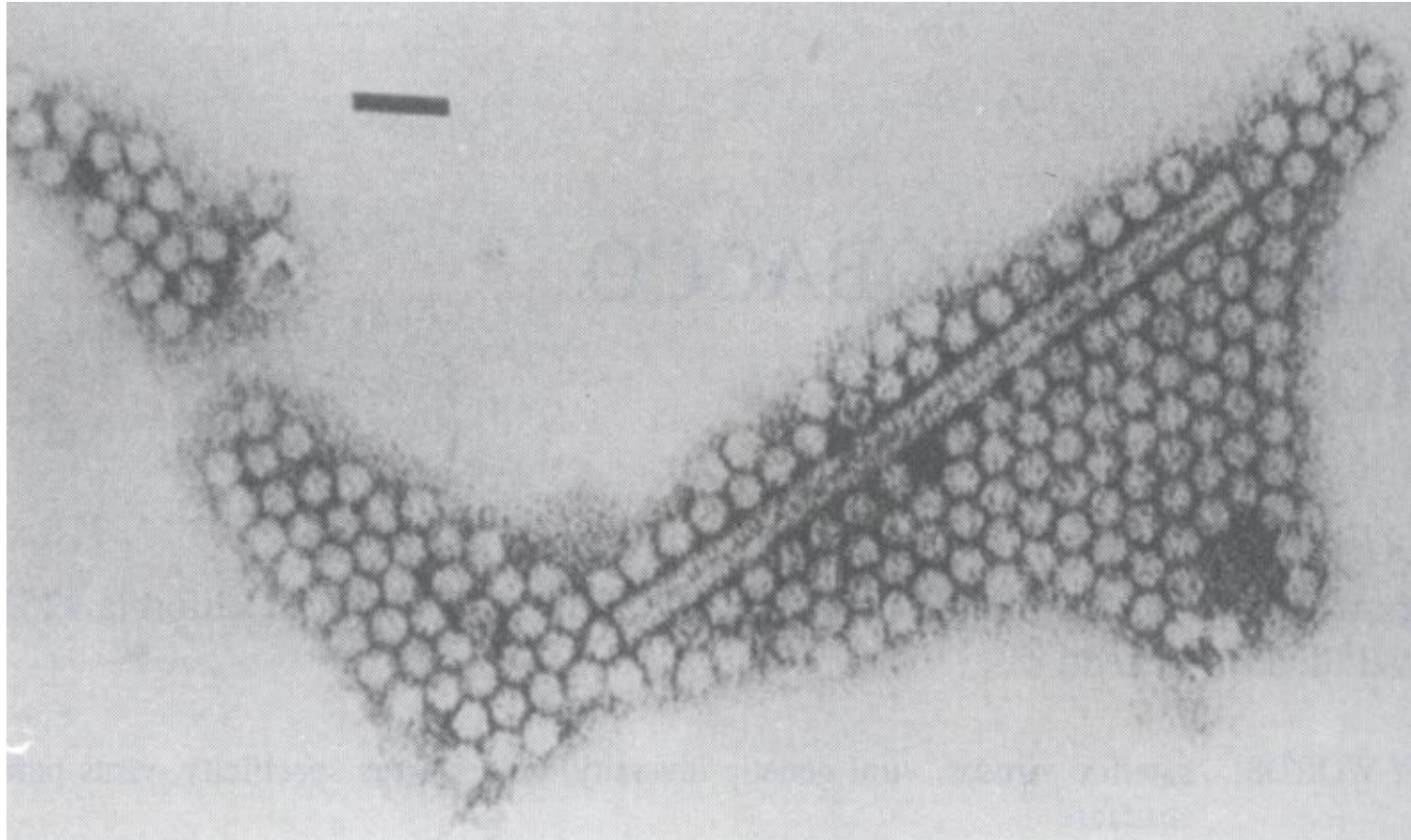
Χαρακτηριστικά του δ ιού STMV

- Φυσικός ξενιστής *N. glauca*.
- Σφαιρικός 16-17 nm.
- Γονιδίωμα ssRNA.
- Μοναδικός δ ιός με βοηθό ραβδόμορφο ιό.
- Κωδικοποιεί μόνον την ΚΠ.
- Δεν μεταβάλλει τη συμπτωματολογία.

Ann. Rev. Phytopathol. 1998, 36:295-310



Δορυφορικός ιός STMV



Προέλευση φυτικών ιών

- Προέρχονται από πρωτόγονες προ-κυτταρικές μορφές ζωής (βασισμένο στην ιδέα ότι τα προβιοτικά πολυμερή ήταν RNA).
- **Αναπτύχθηκαν-προήλθαν από τα συστατικά των κυττάρων** (ξέφυγαν από τον έλεγχο του κυτταρικού μηχανισμού και έγιναν αυτό-αναπαραγόμενες οντότητες).
- **Προήλθαν από εκφυλισμένα κύτταρα** (στη συνέχεια “παρασιτούν” τα φυσιολογικά κύτταρα).



Ιός

- Ένα ή περισσότερα μόρια (μήτρες) νουκλεϊκών οξέων που περιβάλλονται από προστατευτική καψιδιακή πρωτεΐνη (ΚΠ) ή φάκελο λιποπρωτεΐνης.
- Είναι ικανοί να οργανώσουν την αναπαραγωγή τους μόνο σε ζωντανά κύτταρα των φυτών-ξενιστών τους.
- Συνήθως μεταδίδεται οριζοντίως μεταξύ των ξενιστών του.



Η αναπαραγωγή των ιών

- i. Εξαρτάται από την μηχανή πρωτεϊνοσύνθεσης του ξενιστή.
- ii. Οργανώνεται από «πισίνες» των απαιτούμενων υλικών και όχι διχοτόμηση.
- iii. Γίνεται σε θέσεις του κυττάρου που δεν διαχωρίζονται σαφώς (όχι διαμερισματοποίηση).
- iv. Δίνει συνεχώς παραλλαγές διαμέσου διαφόρων μεταβολών στο ΝΟ.

Hull (2001)



Χαρακτηριστικά φυτικών ιών (> 600)

- Υποχρεωτικά παράσιτα; Πολλαπλασιάζονται σε ζωντανά κύτταρα; Διασυστηματικοί στα φυτά.
- Δεν έχουν την οργάνωση κυττάρων.
- Νουκλεοπρωτεΐνες (νουκλεϊκό οξύ και πρωτεΐνη).
- Ένας τύπος ΝΟ (είτε RNA ή DNA).
- Πολλές μονάδες της ίδιας πρωτεΐνης (υπομονάδες πρωτεΐνης) συνιστούν το ικό περίβλημα (καψίδιο).
- Μερικοί ιοί έχουν φάκελο λιποπρωτεΐνης.
- Μόνο το ΝΟ (RNA ή DNA) απαραίτητο για τη μόλυνση - genes on virus.



Τι θα πρέπει να γνωρίζετε

- Τι είναι οι ιοί (ορισμοί Bos, Hull).
- Χαρακτηριστικά δομής και αναπαραγωγής των ιών.
- Διαφορές ιών-κυττάρων.
- Αρχές του Koch.
- Μορφή και Δομή ιών.
- Τύποι ΝΟ ιών ζώων, βακτηρίων και φυτών.
- Ιικές πρωτεΐνες.
- Ρόλος καψιδιακής πρωτεΐνης.
- Δορυφορικοί ιοί, Δορυφορικά RNA.



Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (1/11)

- Το Έργο αυτό κάνει χρήση των ακόλουθων έργων:
- Εικόνες/Φωτογραφίες
- Εικόνα 1: Σύστημα στο οποίο το σχήμα και το μέγεθος ορισμένων φυτοπαθογόνων παρουσιάζεται σε σχέση με ένα φυτικό κύτταρο.
http://ocwus.us.es/produccion-vegetal/sanidad-vegetal/tema_18/page_03.htm
- Εικόνα 2: Διάφορα είδη ιών. Κατής Ν. (2000). Ιολογία Φυτών, Εκδόσεις Πήγασος.



Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (2/11)

- Εικόνα 3: Μονόκλωνο και δίκλωνο DNA και RNA.
<http://atlas.arabslab.com/showphoto.php/photo/229>
- Εικόνα 4: Τριμερές γονιδίωμα. Κατής Ν. (2000). Ιολογία Φυτών, Εκδόσεις Πήγασος.
- Εικόνα 5: Τριμερές γονιδίωμα.
<http://library.certh.gr/libfiles/PDF/EL-PAPYR-3417-GEORGIA-KAI-by-MENKISOGLOU-in-ECOCITY-HMERIDA-THESS-15-MAY-2008-PPT-59.pdf>
- Εικόνα 6: Τριμερές γονιδίωμα.
https://en.wikipedia.org/wiki/Cucumber_mosaic_virus



Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (3/11)

- Εικόνα 7: Τριμερές γονιδίωμα (RNA 1-3). Κατής Ν. (2000). Ιολογία Φυτών, Εκδόσεις Πήγασος
- Εικόνα 8: Ιοσωμάτια του TMV στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Κατής Ν. & Αυγελής Α. (1997). Ιολογικές Ασθένειες Φυτών Μεγάλης Καλλιέργειας. Εκδόσεις Αγροτύπος α.ε.
- Εικόνα 9: Φυτό καπνού με συμπτώματα σκουροπράσινου μωσαϊκού, αποτέλεσμα της μόλυνσης από τον TMV. Φωτογραφικό αρχείο Ν. Κατή.
- Εικόνα 10: A.E. Mayer.
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Adolf_Mayer_ca._1920.jpg



Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (4/11)

- Εικόνα 11: < Συμπτώματα μωσαϊκού από τον ιό TMV >< Φωτογραφικό αρχείο N. Κατή >
- Εικόνα 12: < D. Iwanovskiy ><
<https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%98%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9,%D0%94%D0%BC%D0%B8%D1%82%D1%80%D0%B8%D0%B9%D0%98%D0%BE%D1%81%D0%B8%D1%84%D0%BE%D0%B2%D0%B8%D1%87> >
- Εικόνα 13: < M.W. Beijerinck ><
https://en.wikipedia.org/wiki/Martinus_Beijerinck >
- Εικόνα 14,15,16: < *Tomato spotted wilt virus* (TSWV)><Φωτογραφικό αρχείο N. Κατή>
- Εικόνα 17: <TSWV/μαρούλι><Φωτογραφικό αρχείο N. Κατή>



Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (5/11)

- Εικόνα 18: <CMV-CARNA-5 (Νέκρωση της τομάτας)><Φωτογραφικό αρχείο N. Κατή>
- Εικόνα 19: < Robert Koch ><
<http://www.itg.be/itg/generalsite/Default.aspx?WPID=688&MID=637&IID=275&L=E> >
- Εικόνα 20: < Τοπικές κηλίδες/ταχεία ποσοτική εκτίμηση μολυσματικότητας των ιών >< Φωτογραφικό αρχείο N. Κατή >
- Εικόνα 21: < Ορολογική διάκριση του ιού TMV >< Φωτογραφικό αρχείο N. Κατή >
- Εικόνα 22: < Ορολογική διάκριση του ιού PVX >< Φωτογραφικό αρχείο N. Κατή >



Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (6/11)

- Εικόνα 23,24,25: Εργαστηριακός εξοπλισμός και φωτογραφίες από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Επεξεργασία Ν. Κατής.
- Εικόνα 26: < Συλλογή φωτογραφιών ιοσωματίων διαφόρων ιών στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο>< Κατής Ν. (2000). Ιολογία Φυτών, Εκδόσεις Πήγασος >
- Εικόνα 27: < Crick and Watson >< http://kpe-kastor.kas.sch.gr/biodiversity_site/b/genome.htm>
- Εικόνα 28: < Μόλυνση ενός φυτικού κυττάρου με υβρίδια του ιού του μωσαϊκού του καπνού >< Επεξεργασία Ν.Κατής>



Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (7/11)

- Εικόνα 29: < Βαθμίδωση Σακχαρόζης><Φωτογραφικό αρχείο Ν. Κατή>
- Εικόνα 30: < Δορυφορικοί ιοί>< Φωτογραφικό αρχείο Ν. Κατή >
- Εικόνα 31: < Άγνωστο δείγμα Νο 4><Πειραματικά δεδομένα Ν. Κατή>
- Εικόνα 32: < Ελικοειδής δομή ενός τμήματος DNA><
<http://www.leelofland.com/wordpress/dna-testing/> >
- Εικόνα 33: < Δομή του ιού του μωσαϊκού του καπνού >< Κατής Ν. (2000). Ιολογία Φυτών, Εκδόσεις Πήγασος >
- Εικόνα 34: < Χαρακτηριστικά της δομής του TMV><
www.ppws.vt.edu/~sforza/tmv/tmv.html>



Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (8/11)

- Εικόνα 35: < Υπομονάδες πρωτεΐνης >< Κατής Ν. (2000). Ιολογία Φυτών, Εκδόσεις Πήγασος >
- Εικόνα 36: < Μορφολογία πρωτεϊνών><
<http://cmgm.stanford.edu/biochem200/01Protein.html> >
- Εικόνα 37: < Δομή του ιού του μωσαϊκού του καπνού ><
http://www.virology.net/Big_Virology/BVunassignplant.html >
- Εικόνα 38: Εικοσαεδρικά (σφαιρικά) ιοσωμάτια><Επεξεργασία Ν. Κατής>
- Εικόνα 39: Ραβδόμορφα (helical) ιοσωμάτια>< Επεξεργασία Ν. Κατής>
- Εικόνα 40: Geminivirus (ssDNA μέσα σε διπλή σφαίρα)>< Κατής Ν. (2000). Ιολογία Φυτών, Εκδόσεις Πήγασος >
- Εικόνα 41: Tobacco mosaic virus (+ssRNA στο εσωτερικό ελικοειδών ραβδίων)>< Κατής Ν. (2000). Ιολογία Φυτών, Εκδόσεις Πήγασος >



Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (9/11)

- Εικόνα 42: < Κοινά χαρακτηριστικά των εικοσαεδρικών virions><Επεξεργασία Ν. Κατής.>
- Εικόνα 43: < Ιοί με διηρημένο γονιδίωμα >< Κατής Ν. (2000). Ιολογία Φυτών, Εκδόσεις Πήγασος >
- Εικόνα 44,45: < Δορυφορικοί ιοί><Kassanis, 1962>
- Εικόνα 46: Συμπτώματα CMV σε φυτά τομάτας ><Φωτογραφικό αρχείο Ν. Κατή>
- Εικόνα 47,48: Συμπτώματα CMV+CARNA-5 σε φυτά τομάτας ><Φωτογραφικό αρχείο Ν. Κατή>
- Εικόνα 49: Δορυφορικός ιός STMV><Ann. Rev. Phytopathol. 1998, 36:295-310>



Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (10/11)

- Το Έργο αυτό κάνει χρήση των ακόλουθων έργων:
- Πίνακες
- Πίνακας 1: < Αξία ενός ιωμένου βολβού τουλίπας (ποικ. Semper Augustus) ><Αρχείο δεδομένων N. Κατή>
- Πίνακας 2: < Ιοί - κύτταρα ><Αρχείο δεδομένων N. Κατή>
- Πίνακας 3: < Κατανομή των τεσσάρων βασικών τύπων των νουκλεϊκών οξέων μεταξύ των βακτηρίων των φυτών και των ζώων><Αρχείο δεδομένων N. Κατή>
- Πίνακας 4: < Φυτικοί ιοί με RNA και DNA γονιδίωμα><Αρχείο δεδομένων N. Κατή>



Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (11/11)

- Πίνακας 5: < Περιεκτικότητα ορισμένων ιών σε πρωτεΐνη και νουκλεϊκό οξύ ><Αρχείο δεδομένων Ν. Κατή>



Σημείωμα Αναφοράς

Copyright Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Νικόλαος Κατής -
Βαρβάρα Μαλιόγκα. «Ιολογία Φυτών. Εισαγωγή». Έκδοση: 1.0.
Θεσσαλονίκη 2014. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση:
<https://opencourses.auth.gr/courses/OCRS511/>.



Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά - Παρόμοια Διανομή [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.

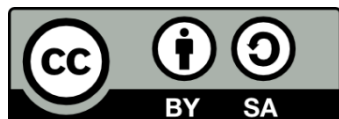
[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>





Τέλος ενότητας

Επεξεργασία: Χρυσάνθη Χαρατσάρη
Θεσσαλονίκη, Εαρινό εξάμηνο 2013-2014



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ



ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

Σημειώματα

Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
- το Σημείωμα Αδειοδότησης
- τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
- το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει)

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.

