

JERZY SYLLER

Zakład Genetyki i Materiałów Wyjściowych Ziemniaka  
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Oddział Młochów  
Platanowa 19, 05-831 Młochów  
e-mail: j.syller@ihar.edu.pl

## MECHANIZMY PRZENOSZENIA WIRUSÓW ROŚLINNYCH I ZWIERZĘCYCH PRZEZ STAWONOGI

### WPROWADZENIE

W rozprzestrzenianiu chorób wirusowych roślin i zwierząt istotną rolę odgrywają organizmy żywe, które charakteryzują się specyficznymi powiązaniem z wirusami. Organizmy odznaczające się zdolnością przenoszenia patogenów nazywane są wektorami. Przeważająca większość wirusów roślinnych oraz wiele wirusów powodujących choroby zwierząt posiada zdolność przenoszenia się za pośrednictwem stawonogów (Arthropoda). Przedstawiciele tej gromady zwierząt tworzą najliczniejszą i najbardziej wszechstronną populację wektorów, ale są również wirusy przenoszone przez nicienie, a także przez grzyby. Stawonogi przenoszą ponad 500 arbowirusów, czyli wirusów zwierzęcych, które posiadają zdolność namnażania się nie tylko we krwi zaatakowanego kręgowca, lecz także w organizmie wektora (NUTTALL i współaut. 1991). Dzięki tej zdolności, ilość wirusa w wektorze jest zawsze wystarczająca do wywołania infekcji u zwierzęcia, którego krwią organizm ten się odżywia. Również niektóre wirusy roślinne mają zdolność replikacji nie tylko w komórkach rośliny-gospodarza, lecz również w tkankach wektora. Wirusy te, należące do pięciu rodzin, spokrewnione są z arbowirusami. Przedstawiciele trzech rodzin: bunyawirusów (Bunyaviridae), rhabdowirusów (Rhabdoviridae) oraz reowirusów (Reoviridae) porażają nie tylko rośliny, lecz także owady i kręgowce (AMMAR 1994, GRAY i BANERJEE 1999). Jednak w przeciwieństwie do wirusów zwierzęcych, zdecydowana większość wirusów roślinnych nie namnaża się w wektorze. Zarazem jednak wirusy roślinne cechuje znacznie większa różnorodność i bardziej rozwinięta specjalizacja powiązań z wektorami.

Najefektywniejszymi wektorami zarówno wirusów roślinnych, jak i wirusów zwierzęcych są owady, zwłaszcza posiadające kłująco-ssący narząd gębowy (TURELL 1988, WEAVER 1997, GILDOW 1999). Najliczniejszą i najlepiej wyspecjalizowaną grupę wektorów wirusów roślinnych stanowią mszyce (Homoptera: Aphididae) (DARCY i NAULT 1982). Inne owady odgrywają mniejszą rolę, jakkolwiek skoczki (Homoptera: Jassidae) i mączliki (Homoptera: Aleyrodidae) w istotny sposób przyczyniają się do rozprzestrzeniania chorób wywoływanych przez wirusy reprezentujące dość okazałą rodzinę Geminiviridae (DAVIES i STANLEY 1989, GRAY i BANERJEE 1999). Z kolei najważniejszymi i najliczniej występującymi wektorami arbowirusów są komary (Culicidae), lecz wirusy te są również przenoszone przez niektóre roztocze (SMITH 1976, TURELL 1988).

Związki łączące wirusy z ich wektorami były najczęściej badane w odniesieniu do wirusów powodujących groźne choroby ludzi lub zwierząt oraz wirusów porażających rośliny, krzewy lub drzewa o znaczeniu gospodarczym. Choroby powodowane przez te wirusy wciąż stanowią ogromny problem cywilizacyjny i gospodarczy. Na skutek infekcji wywołanej przez wirusy przenoszone przez stawonogi każdego roku umierają setki ludzi. Z kolei straty powodowane przez choroby wirusowe w pogłowie zwierząt hodowlanych i w uprawach roślin rokrocznie sięgają wielu miliardów dolarów. Wiedza na temat mechanizmów przenoszenia wirusów przez stawonogi jest wciąż niezadowolająca, jednak, dzięki zastosowaniu technik molekularnych, jej zakres znacznie się w ostatnich latach poszerzył. Przybývá dowodów, że w interakcji wirus-we-

ktor zasadniczą rolę odgrywa białko kapsydu wirusa (GRAY 1996). Charakteryzowane są związki łączące białka kapsydu z białkami pochodzenia bakteryjnego występującymi w tkankach owada. Wiadomo ponadto, że przeniesienie niektórych wirusów przez owady zależy od specyficznych funkcji niestrukturalnych białek pochodzenia wirusowego, syntetyzowanych w komórkach porażonych roślin.

#### KLASYFIKACJA WIRUSÓW ZE WZGLĘDU NA SPOSÓB PRZENOSZENIA PRZEZ STAWONOGI

Związki łączące wirusy z wektorami ukształtowały się w drodze przemian ewolucyjnych. Szczególnie duża różnorodność form interakcji z wektorami cechuje wirusy roślinne. Najlepiej poznane są związki łączące wirusy z mszycami i one najczęściej są wykorzystywane do zobrazowania wzajemnych relacji wirus-vektor. Ponieważ zasadnicze mechanizmy interakcji wirusów z mszycami, skoczками i mączlikami wydają się być do siebie podobne, terminologia stosowana pierwotnie tylko w odniesieniu do wirusów przenoszonych przez mszyce ma dziś bardziej wszechstronne zastosowanie (MURANT 1990, GRAY 1996, GRAY i BANERJEE 1999).

Wśród wirusów roślinnych przenoszonych przez mszyce są takie, których cykl życiowy jest związany wyłącznie z tymi owadami, a także wirusy, które są przenoszone zarówno przez mszyce, jak i mechanicznie, bez pośrednictwa owadów, najczęściej przez kontakt liści rośliny chorej ze zdrową. Do pierwszej grupy należą wirusy, które opanowują zasadniczo tylko tkankę floemową roślin (TALIANSKY i BARKER 1999). Wirusy te mogą być przeniesione przez mszyce w czasie nie krótszym niż kilka godzin, a niekiedy do pełnego zakończenia tego procesu potrzeba kilku dni. W tym czasie, wiriony, czyli infekcyjne cząstki wirusa dostające się wraz z sokiem z wiązki przewodzącej rośliny do kanału pokarmowego mszycy, pokonują w organizmie owada długą drogę nim zostaną przez klujkę mszycy wprowadzone do tkanki przewodzącej kolejnej rośliny. Czas upływający od pobrania wirusa do momentu wydostania się wirionów z ciała wektora nazywany jest okresem latencji (MURANT 1990). Wirusy odbywające taki specyficzny cykl krążeniowy w tkankach wektora określa się mianem wirusów przenoszonych w sposób krążeniowy lub „wirusów krążeniowych” (ang. circulative viruses) (MURANT 1990, GRAY 1996, GRAY i BANERJEE 1999).

Większość krążeniowych wirusów roślinnych nie ma zdolności namnażania się w tkankach wektora (ang. circulative non-propagative viruses). Wirusy te mogą jednak przetrwać w

W artykule tym, najważniejsze mechanizmy warunkujące zdolność przenoszenia wirusów przez stawonogi są pokazane głównie na przykładzie związków łączących wirusy roślinne z ich wektorami. Sposoby przenoszenia wirusów zwierzęcych przez stawonogi są słabiej poznane, ale i one zostaną scharakteryzowane w takim zakresie, na jaki pozwala objętość tej pracy.

mszycy w formie infekcyjnej przez długi czas, często do końca życia owada. W konsekwencji, owad będący nosicielem takiego wirusa może spowodować infekcję u wielu roślin. Ze względu na tę specyficzną właściwość, wirusy krążeniowe były pierwotnie określane mianem wirusów trwałych (ang. persistent viruses). Obecnie stosuje się równorzędnie obie nazwy, przy czym określenie „wirus krążeniowy” lepiej obrazuje powiązania wirusa z wektorem.

Krążeniowe wirusy roślinne namnażające się w wektorze (ang. circulative propagative viruses) są znacznie mniej liczne, niż wirusy nie wykazujące tej zdolności. Poza kilkoma wyjątkami, do których należy wirus brązowej plamistości pomidora z rodziny Bunyviridae, wirusy te nie mają dużego znaczenia gospodarczego.

Określenie „wirus krążeniowy” może być również stosowane w odniesieniu do wirusów zwierzęcych, które przenoszone są wewnątrz organizmu wektora. W ten sposób przenosi się większość wirusów zwierzęcych korzystających z pośrednictwa stawonogów. Są to, jak już wcześniej wspomniano, przede wszystkim arbo-wirusy posiadające zdolność namnażania się w wektorze.

Z kolei wirusy roślinne przenoszone zarówno przez mszyce, jak i mechanicznie, mogą być przeniesione przez owada z rośliny na roślinę w czasie nie przekraczającym kilku minut (HARRIS 1990, MURANT 1990). Jednak owad szybko traci zdolność powodowania infekcji, bowiem okres retencji wirusa w wektorze jest krótki. Wirusy te są nabywane przez mszyce, wraz z niewielką ilością soku, podczas próbnego nakłucia sztyletów owada w tkance miękkiszowej rośliny. Różnią się one od wirusów krążeniowych tym, że nie odbywają wędrówki w ciele wektora, lecz przytwierdzają się do wewnętrznych powierzchni jego narządu gębowego lub przedniego odcinka przewodu pokarmowego (HARRIS 1990, GRAY 1996, GRAY i BANERJEE 1999). Po uwolnieniu, cząstki wirusa wydostają się wraz ze śliną na zewnątrz klujki. Dla odróżnienia od wirusów krążeniowych (trwałych), wirusy te określane są

mianem wirusów niekrażeniowych (ang. non-circulative viruses) albo nietrwałych lub półtrwałych (w zależności od długości okresu retencji wirusa w wektorze) (ang. nonpersistent albo semipersistent viruses).

Również niektóre wirusy zwierzęce przenoszone są przez stawonogi w sposób, który w

przybliżeniu można określić jako „niekrażeniowy”. W odróżnieniu jednak od wirusów roślinnych wykazujących specyficzne powinowactwo z tkanką wektora, większość niekrażeniowych wirusów zwierzęcych przenosi się na zasadzie czysto mechanicznej.

#### KRAŻENIOWE PRZENOSZENIE WIRUSÓW

Droga, jaką cząstki wirusa przebywają w organizmie stawonoga, jest podobna dla krażeniowych wirusów roślinnych i zwierzęcych. Wiriony dostają się wraz z sokiem rośliny lub krwią zwierzęcia do przewodu pokarmowego wektora, a następnie przemieszczają się do hemolimfy, która jest głównym rezerwuarem wirusa w ciele stawonoga. Z hemolimfy wiriony dostają się do gruczołów ślinowych wektora, skąd wraz ze śliną mogą być wprowadzone do organizmu kolejnej rośliny lub zwierzęcia, powodując infekcję. Wirusy zwierzęce porażające stawonogi opanowują również inne tkanki swego gospodarza.

W trakcie pasażu w ciele wektora niektóre wirusy roślinne namnażają się, ale większość nie posiada tej zdolności. Natomiast arbowirusy replikują w tkankach stawonogów.

#### WIRUSY NIE NAMNAŻAJĄCE SIĘ W ORGANIZMIE WEKTORA

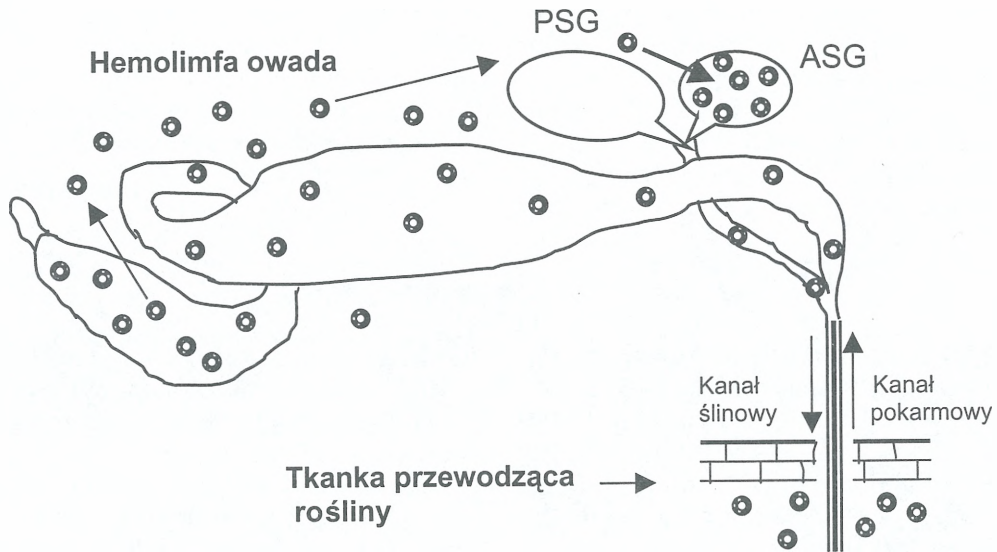
Najlepiej poznanymi, krażeniowymi wirusami roślinnymi nie replikującymi w wektorze są przenoszone przez mszyce wirusy z rodziny Luteoviridae. Te ważne gospodarczo patogeny roślinne charakteryzują się wysoko wyspecjalizowanymi powiązaniem z wektorami. Typowymi przedstawicielami luteowirusów są wirusy żółtej karłowatości jęczmienia (BYDV), wirus liściozwoju ziemniaka (PLRV) oraz żółtaczkowe wirusy buraka cukrowego, np. wirus zachodniej żółtaczki buraka (BWYV).

Luteowirusy zasiedlają tkankę floemową rośliny, zatem cząstki wirusa dostają się do przewodu pokarmowego mszycy tylko wówczas, gdy pobiera ona sok z wiązki przewodzącej. Po odbyciu pasażu do hemolimfy, a następnie do gruczołu ślinowego owada, wiriony wydostają się wraz ze śliną kanałem ślinowym (GILDOW 1999) (Ryc. 1). Jeśli mszyca zmieni roślinę żywicielską, cząstki wirusa wydostaną się w trakcie żerowania mszycy do wiązki przewodzącej tej rośliny i spowodują jej zakażenie. W procesie przenoszenia luteowirusów przez mszyce aktywną rolę pełni prawdopodobnie tylko pomocniczy gruczoł ślinowy (ang. accessory salivary gland, ASG) (Ryc. 1). Nie ma natomiast

dowodów na powinowactwo luteowirusów z błonami głównego gruczołu ślinowego (ang. principal salivary gland, PSG), ani z innymi tkankami wektora.

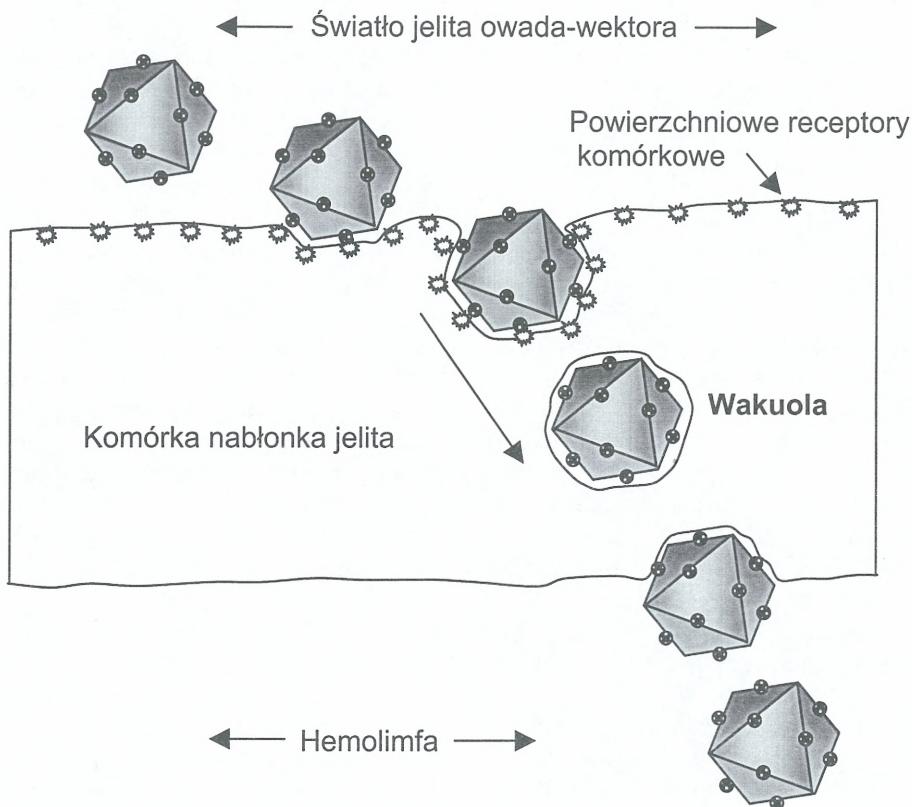
Żeby dostać się do hemolimfy, a następnie do śliny wektora, wiriony uruchamiają mechanizmy, które umożliwiają im pokonanie barier w postaci ścianek jelita i gruczołów ślinowych owada. Sforsowanie tych błon przez wiriony odbywa się na zasadzie endocytozy. W procesie tym aktywną rolę odgrywają powierzchniowe receptory komórek owada (ang. receptor-mediated endocytosis) (GILDOW 1993, GILDOW i GRAY 1993). W miejscu, w którym do błony komórkowej przytwierdzony jest wirion, powstaje wgłębienie, po czym wirion jest wciągany w głąb komórki i w efekcie tworzy się wakuola, która przemieszcza się wraz ze znajdującym się wewnątrz niej wirusem przez ściankę jelita lub gruczołu ślinowego (Ryc. 2). Ten swoisty pasaż kończy się fuzją błony otaczającej wakuolę z plazmalemą i następuje uwolnienie wirionu do hemolimfy lub śliny owada.

Powierzchniowe receptory komórek owada mają zdolność tworzenia silnych wiązań z określonymi domenami na powierzchni białka kapsydu wirusa (Ryc. 2). Istnienie tego zjawiska dowodzi, że przenoszenie przez mszyce krażeniowych wirusów roślinnych jest możliwe dzięki specyficznej interakcji między wirionem a wektorem. Izometryczny wirion luteowirusa zawiera jednoniciowy (+) RNA, wielkości około 6 kb, kodujący 5 lub 6 białek (MAYO i ZIEGLER-GRAFF 1996). Białka te powstają w wyniku translacji tzw. otwartych ramek odczytu (ang. open reading frame, ORF). Produktem translacji ORF 3 jest główne białko płaszczka (ang. coat protein) wielkości 22–23 kDa, natomiast translacja ORF 5 powoduje ekspresję białka fuzyjnego wielkości 72–79 kDa (ang. readthrough protein, RTP) (BAHNER i współaut. 1990, WANG i współaut. 1995). Oba białka są odpowiedzialne za przenoszenie luteowirusów przez mszyce. Jednak nie wiadomo jeszcze, które sekwencje aminokwasowe białka płaszczka i RTP regulują transport cząstek wirusa przez błony ścianki jelita i gruczołu ślinowego. Do niedawna domi-



Ryc. 1. Schemat przemieszczania się w organizmie wektora cząstek wirusa przenieszonego przez mszyce w sposób krążeniowy.

Wiriony pobrane przez mszycę wraz z sokiem z wiązki przewodzącej rośliny dostają się do przewodu pokarmowego owada, następnie przemieszczają się do hemolimfy, a z hemolimfy odbywają pasaż do gruczołu ślinowego wektora. Z gruczołu ślinowego wydostają się z wydzieliną ślinową owada do wiązki przewodzącej innej rośliny. Mszyca posiada dwa gruczoły ślinowe: główny gruczoł ślinowy (ang. principal salivary gland, PSG) i dodatkowy gruczoł ślinowy (ang. accessory salivary gland, ASG). Rezerwuarem wirionów jest tylko ASG.



Ryc. 2. Schemat przedstawiający pasaż wirusa krążeniowego na zasadzie endocytozy przez błony strukturalne jelita do hemolimfy owada.

Wirion wykazuje powinowactwo z receptorami komórkowymi rozmieszczonymi na powierzchni błon wyścielających ścianki jelita. W miejscu przytwierdzenia wirionu powstaje wgłębienie, które stopniowo przekształca się w wakuolę. W wakuoli wirion odbywa pasaż przez ściankę jelita i zostaje uwolniony do hemolimfy owada. Sforsowanie przez wirion błon gruczołu ślinowego odbywa się prawdopodobnie w taki sam sposób.

nującą rolę przypisywano RTP. Wykazano między innymi, że cząstki mutantów pozbawionych regionu kodującego RTP były nabywane przez mszyce i przemieszczały się z przewodu pokarmowego do tkanki hemolimfatycznej, ale nie stwierdzono ich obecności w komórkach rośliny podczas żerowania owada (CHAY i współaut. 1996, BRUYÈRE i współaut. 1997). Obserwacje te pozwalały wnioskować, że białko płaszczka jest odpowiedzialne za pasaż wirionów przez ścianki jelita do hemolimfy, a RTP za pasaż wirionów z hemolimfy do gruczołów ślinowych. Wyniki innych badań nasuwają jednak wątpliwości co do takiego właśnie podziału zadań pomiędzy oba białka.

W procesie przenoszenia luteowirusów przez mszyce aktywną rolę odgrywają nie tylko białka wirusowe, lecz także specyficzne symbioniny (GroEL) produkowane w hemolimfie wektora przez endosymbiotyczne bakterie z rodzaju *Buchnera* (VAN den HEUVEL 1999). Białka *Buchnera* GroEL, podobnie jak *Escherichia coli* GroEL, są oligomerami o rozmiarach 840 kDa, zbudowanymi z 14 jednakowych podjednostek wielkości 60 kDa, upakowanych w dwóch przylegających do siebie pierścieniach o budowie heptametrycznej. Odpowiednio ustruktrowane domeny form GroEL wykazują zdolność przyłączania w warunkach *in vitro* wirionów luteowirusów oraz wirusa ostrej mozaiki grochu (PEMV). Przyłączanie się wirionów luteowirusów do białek produkowanych przez bakterie *Buchnera* jest determinowane przez N-końcowy region RTP wirusa. Z kolei w badaniach przeprowadzonych w warunkach *in vivo* stwierdzono, że zaaplikowanie mszycom, *Myzus persicae*, antybiotyku znacznie obniżyło poziom symbionin w hemolimfie, czego efektem był rozpad białek kapsydu wirionów PLRV znajdujących się w hemolimfie i w rezultacie ograniczenie zdolności przenoszenia wirusa. Wykazano również, że wstrzyknięte mszycom mutanty BWYV pozbawione RTP, a zatem niezdolne do interakcji z *Buchnera* GroEL, wykazywały znacznie mniejszą trwałość w hemolimfie, niż wiriony posiadające RTP. Nasuwa się wniosek, że białko syntetyzowane przez bakterie wiążąc się z wirionem tworzy strukturę, która dzięki swoistym właściwościom chroni wirus przed degradacją przez enzymy proteolityczne w hemolimfie wektora.

O geminiwirusach, drugiej grupie krążeniowych wirusów roślinnych, wiadomo znacznie mniej, niż o luteowirusach. Wirusy te prawdopodobnie również nie namnażają się w tkankach wektora, ale nie jest to ostatecznie dowiedzione. Przenoszenie geminiwirusów przez skoczki lub mączliki zdaje się być regulowane tylko

przez białko płaszczka (GRAY 1996, GRAY i BANERJEE 1999). Na podstawie zakresu roślin-gospodarzy, interakcji wirus-wektor oraz organizacji genomu w postaci kolistego, jednoniciowego DNA, geminiwirusy podzielono na trzy jednostki taksonomiczne. Cechą wyodrębniającą geminiwirusy przenoszone przez mączliki (rodzaj *Bigeminivirus*) jest tak silnie konserwatywna sekwencja aminokwasów białka płaszczka, że wirusy z tej grupy przenoszone są tylko przez kilka biotypów gatunku *Bemisia tabaci* Genn. Natomiast geminiwirusy przenoszone przez skoczki (rodzaje *Monogeminivirus* i *Hybrigeminivirus*) różnią się między sobą strukturą białka płaszczka do tego stopnia, że każdy z tych wirusów jest zasadniczo związany z innym gatunkiem tego owada. Nie jest wykluczone, że w przenoszeniu geminiwirusów, podobnie jak w przenoszeniu luteowirusów, jakaś rola przypada symbioninom produkowanym przez endosymbiotyczne bakterie, których obecność stwierdzono w mączlikach (GRAY i BANERJEE 1999). Wyjaśnienie tej kwestii wymaga jednak dalszych badań.

Nie są dotychczas znane krążeniowe wirusy zwierzęce, pozbawione zdolności namnażania się w tkankach wektora. Wirusy nie namnażające się są przenoszone przez stawonogi w sposób niekrążeniowy. Będzie o nich wzmianka w dalszej części artykułu.

#### WIRUSY NAMNAŻAJĄCE SIĘ W ORGANIZMIE WEKTORA

Wirusy roślinne posiadające zdolność replikacji w wektorze reprezentują wspomniane wcześniej trzy rodziny: Bunyviridae, Reoviridae i Rhabdoviridae, skupiające łącznie siedem rodzajów wirusów, wśród których są również wirusy porażające zwierzęta. Zdolność replikacji w wektorze mają ponadto wirusy należące do rodzajów *Marafivirus* i *Tenuivirus*, porażające tylko rośliny (GRAY i BANERJEE 1999). Do tych pięciu grup taksonomicznych zaklasyfikowano dotychczas około 120 wirusów roślinnych. Wirusy te przenoszone są przede wszystkim przez różne gatunki skoczków. Wektorami innych są mszyce, natomiast tospowirusy z rodziny Bunyviridae, których typowym przedstawicielem jest wirus brązowej plamistości pomidora, przenoszone są przez przylżeńce (Thysanoptera).

Wirusy zwierzęce porażające stawonogi i namnażające się w tkankach wektora, to przede wszystkim arbowirusy. Niewiele dotychczas wiadomo o molekularnych mechanizmach warunkujących zdolność przenoszenia tych wirusów przez komary lub kleszcze, ani też o mechanizmach regulujących efektywność wektorów (GRAY i BANERJEE 1999). Wiadomo jednak, że

proces ten, podobnie jak przenoszenie krążeniowych wirusów roślinnych, opiera się na precyzyjnym rozpoznaniu receptorów komórkowych w ciele wektora przez określone domeny kapsydu wirusa. Uwaga wirusologów, zajmujących się wirusami ludzi i zwierząt przenoszony

mi przez stawonogi, jest głównie skoncentrowana na poznaniu wektora, a przede wszystkim genetycznych i fizjologicznych czynników regulujących trwałość i zdolność replikacji wirusa w wektorze.

#### NIEKRAŻENIOWE PRZENOSZENIE WIRUSÓW

Mechanizmy regulujące przenoszenie wirusów roślinnych przez stawonogi w sposób niekrażeniowy są generalnie słabiej poznane, niż procesy związane z przenoszeniem krążeniowym. Cząstki wirusów przenoszonych w sposób nietrwały lub półtrwały mogą być przeniesione w formie infekcyjnej tylko wówczas, gdy potrafią one przytwierdzić się do nabłonka aparatu gębowego lub przedniej części układu pokarmowego wektora i zostaną uwolnione podczas kolejnego żerowania owada (PIRONE 1977, GRAY 1996).

Stosunkowo najlepiej poznane jest przenoszenie przez mszyce wirusów roślinnych z rodziny Potyviridae (HARRIS 1977, 1990). Istotną rolę w tym procesie pełni tzw. komponent pomocniczy (ang. helper component, HC), który jest niestrukturalnym białkiem powstającym w komórkach roślinnych na skutek infekcji wywołanej przez potywirusy (HARRIS 1990). Przez długi czas przypuszczano, że białko to odgrywa kluczową rolę w przenoszeniu potywirusów przez mszyce. Istnieją już jednak liczne dowody, że HC nie działa samodzielnie, lecz współdziała z białkiem kapsydu wirusa (MURANT 1990, BLANC i współaut. 1997). Obydwa te białka są kodowane przez genom wirusa (BLANC i współaut. 1997).

Aktywne pośrednictwo białka HC w przenoszeniu potywirusów przez mszyce zostało wielokrotnie dowiedzione. Molekuły HC i cząstki wirusa są równocześnie pobierane wraz z sokiem podczas żerowania owada na porażonej roślinie. Może się jednak zdarzyć, że jakiś izolat wirusa nie posiada zdolności przenoszenia przez mszyce na skutek braku lub uszkodzenia białka HC. Izolat ten może jednak zdolność przenoszenia odzyskać, jeśli mszyce będą najpierw żerowały na roślinie porażonej izolatem indukującym biologicznie aktywne HC, a następnie na roślinie porażonej izolatem defektywnym. Podobny efekt można uzyskać, jeśli mszyce będą żerowały przez błony syntetyczne na sztucznej pożywce zawierającej defektywny izolat w postaci preparatu oczyszczonego wirusa zmieszanego z molekułami aktywnego HC (GOVIER i współaut. 1977, SAKO i współaut. 1984).

Sposób funkcjonowania niestrukturalnego białka HC nie został jeszcze poznany. Jedna z hipotez zakłada, że HC bezpośrednio pośredniczy w przytwierdzaniu się wirionów do tkanki wyściełającej kanał pokarmowy owada tworząc „mostek” łączący wirion z tkanką (GRAY 1996) (Ryc. 3 A). Według innej hipotezy, komponent ten stymuluje określone receptory powierzchniowe tkanki wektora do przyłączania wirionów (Ryc. 3 B). Nie można również wykluczyć, że HC oddziałuje w jakiś sposób na specyficzne domeny białka kapsydu wirusa, dzięki czemu zaczynają one wykazywać powinowactwo z receptorami tkanki wektora (Ryc. 3 C). Ta ostatnia hipoteza wydaje się jednak najmniej przekonująca. Natomiast, niezależnie od rodzaju wiązania, wiriony uwalniane są dzięki aktywności enzymów proteolitycznych.

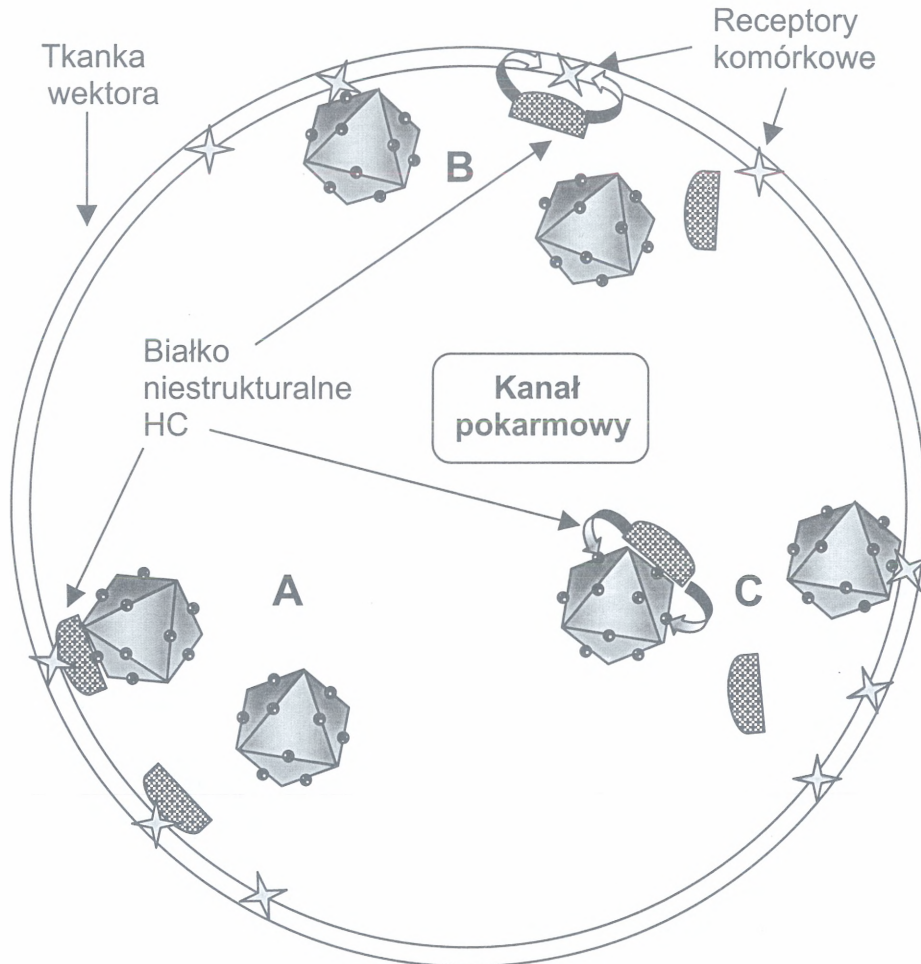
Białko HC indukowane przez określony potywirus umożliwia przenoszenie przez mszyce nie tylko cząstek „macierzystego” wirusa, lecz także wirionów innych potywirusów (PIRONE 1981, SAKO i OGATA 1981). Na przykład, białko wytwarzane w komórkach roślin na skutek porażenia wirusem Y ziemniaka (PVY) jest niezbędne do przeniesienia przez *M. persicae* samego PVY, a w przypadku infekcji mieszanej może również pośredniczyć w przenoszeniu serologicznie spokrewnionego z PVY defektywnego wirusa C ziemniaka (PVC), a także wirusa mozaiki aukuba ziemniaka (PAMV), który nie należy do potywirusów (ROCHOW 1977, patrz również SYLLER 2000a). Żaden z tych dwóch wirusów nie jest zdolny do samodzielnego przenoszenia przez mszyce. Na podkreślenie zasługuje fakt, że przenoszenie PAMV przez mszyce jest możliwe dzięki funkcjom białek HC indukowanych przez co najmniej siedem różnych potywirusów, a z kolei PVC nabywa zdolności przenoszenia tylko w obecności białka HC powstającego wskutek porażenia rośliny przez PVY lub spokrewniony z nim wirus A ziemniaka (PVA). Specyfika powiązań różnych białek HC z wirionami innych potywirusów wynika prawdopodobnie z różnic w sekwencji aminokwasów tych białek.

Również wirusy z rodzaju *Caulimovirus* mogą być przenoszone przez mszyce tylko w obe-

ności niestrukturalnego białka HC (GRAY 1996). Wirusy te mają genom w postaci dwuniciowego DNA, co odróżnia je od większości wirusów roślinnych, zaopatrzonych w genom w formie jednoniciowego RNA. Typowym przedstawicielem caulimowirusów jest wirus mozaiki kalafiora (CaMV). Za przyłączenie się HC do białka kapsydu tego wirusa odpowiadają zaledwie dwa spośród 31 aminokwasów zlokalizowanych w C-końcowym regionie komponentu. W *E. coli* HC ulega ekspresji w postaci białka fuzyjnego o symbolu GST-HC (ang. glutation-S-

funkcjonalnemu HC wypełnienie jego roli (GRAY 1996).

Brak zdolności przenoszenia wirusa przez mszyce nie zawsze jest efektem wadliwego funkcjonowania lub wręcz braku czynnika HC. Okazuje się bowiem, że wirus, który utracił zdolność przenoszenia, niekiedy nadal indukuje biologicznie aktywne białko HC, umożliwiające przenoszenie innego izolatu tego wirusa (PIRONE i THORNBURY 1983). Uzasadnione wydaje się przypuszczenie, że w opisanej sytuacji białko HC nie potrafi rozpoznać białka macie-



Ryc. 3. Hipotetyczne funkcje białka niestrukturalnego HC (ang. helper component) w przytwierdzeniu wirusa przenoszonego przez mszyce w sposób niekraźniowy do kanału pokarmowego wektora:

A — białko HC pełni rolę „mostka” łączącego wirion z tkanką owada, B — białko HC stymuluje receptory komórkowe owada, lub C — białko HC uaktywnia specyficzne miejsca (domeny) na powierzchni białka kapsydu wirusa.

transferase, HC). W warunkach *in vitro* białko to wykazuje zdolność przyłączania białka kapsydu wirusa, nie jest jednak zdolne pośredniczyć w przenoszeniu wirusa przez mszyce. Po podaniu go mszycom, wraz z wirusem i funkcjonalnym HC, znacznie ogranicza efektywność przenoszenia wirusa. Przypuszczalnie GST-HC konkurując skutecznie z rodzimym białkiem HC blokuje receptory wektora, uniemożliwiając

rzystego wirionu. Sytuacja taka może być spowodowana defektem genomu polegającym na nieprawidłowej sekwencji nukleotydów w regionie kodującym białko odpowiedzialne za przenoszenie wirusa przez wektory. W białku tym kluczową rolę w interakcji między wirusem a wektorem pełni triplet aminokwasowy, w układzie: kwas asparaginowy — alanina — glicyna (asp-ala-gly). Mutacja powodująca zamianę

choćby jednego z tych aminokwasów na inny z reguły prowadzi do utraty przez wirus zdolności przenoszenia przez mszyce (PIRONE i BLANC 1996, WANG i współaut. 1996, BLANC i współaut. 1997).

Defektywny wirus może niekiedy odzyskać zdolność przenoszenia przez owady dzięki zjawisku określanemu jako heterologiczna enkapsydacja. Zjawisko to może wystąpić podczas jednoczesnej replikacji dwóch wirusów porażających tę samą roślinę. Polega ono na upakowaniu kwasu nukleinowego jednego wirusa w otoczkę białkową innego wirusa (transkapsydacja) lub w białko kapsydu zbudowane z kapsomerów obu wirusów (mieszanie fenotypowe) (ROCHOW 1977). Stwierdzono na przykład, że nie przenoszony przez mszyce (ang. non-aphid-transmissible, NAT) izolat wirusa żółtej mozaiki cukinii (ZYMV-NAT) nabywał zdolności przenoszenia przez mszyce dzięki heterologicznej enkapsydacji białkiem wirusa pierścieniowej plamistości melonowca (papaja) (PRSV) i pośrednictwu HC PRSV (BOURDIN i LECOQ 1991). Nowe białko kapsydu ZYMV-NAT zostało zbudowane z kapsomerów pochodzących od obu wirusów. Brak zdolności przenoszenia ZYMV-NAT w pierwotnej formie był prawdopodobnie spowodowany mutacją tripletu aminokwasów asp-ala-gly. Do takiego wniosku prowadzą wyniki innych badań, w których zdolność przenoszenia przez mszyce jednego z izolatów ZYMV-NAT udało się przywrócić dzięki ponownemu wprowadzeniu do tripletu alaniny, w miejsce treoniny (GAL-ON i współaut. 1992).

Okazuje się zatem, że niekrażeniowe przenoszenie wirusów roślinnych przez mszyce jest efektem ścisłej interakcji między białkiem kapsydu wirusa a niestrukturalnym białkiem HC. Należy jednak zastrzec, że nie wszystkie wirusy z tej grupy wymagają pośrednictwa dodatkowego czynnika. Przenoszenie przez mszyce wirusów z rodzaju *Cucumovirus*, których typowym przedstawicielem jest wirus mozaiki ogórka (CMV), jest kontrolowane wyłącznie przez białko płaszczka (GRAY i BANERJEE 1999). Podobnie jak w przypadku potywirusów, nawet pozornie niewielkie zaburzenie sekwencji białka płaszczka

CMV zakłóca interakcję między wirusem a wektorem, co znajduje swoje odzwierciedlenie w utracie lub obniżeniu zdolności przenoszenia wirusa.

Niekrażeniowe przenoszenie przez stawonogi wirusów zwierzęcych generalnie wydaje się być mniej skomplikowane, niż przenoszenie wirusów roślinnych. Jak już wcześniej wspomniano, większość wirusów zwierzęcych reprezentujących tę grupę przenosi się przez stawonogi na zasadzie mechanicznej. Oznacza to, że wiriony nie wykazują specyficznego powinowactwa z jakąkolwiek z tkanek wektora, lecz przypadkowo przyczepiają się do jego narządów gębowych lub innych części ciała wraz z odrobiną tkanki (krwi) żywiciela (CARN 1996, TURELL 1988). Przenoszone są w ten sposób wirusy należące do rodzin Herpesviridae, Papovaviridae, Poxviridae i Retroviridae, które mogą rozprzestrzeniać się również bez udziału stawonogów. Do nielicznych wyjątków należy wirus infekcyjnej anemii świń, który do zmiany gospodarza potrzebuje pośrednictwa bąków (Tabanidae).

Niektóre wirusy zwierzęce wykazują jednak bardziej złożone powiązania z wektorami. Należą do nich przede wszystkim myksowirusy (GRAY i BANERJEE 1999). Wirusy te mogą być przenoszone przez różne gatunki stawonogów, ale stosunkowo najwięcej informacji jest o myksowirusach przenoszonych przez komary. Okres retencji tych wirusów w wektorze jest na tyle długi, że komar może spowodować infekcję u wielu osobników zwierząt. Co więcej, wirus jest przenoszony przez różne gatunki komarów z różną efektywnością, przy czym nie jest ona skorelowana z ilością wirusa pobranego przez owada. Obecność wirusa stwierdzano w kłujce i głowie owada, natomiast nie wykryto wirionów w odwłoku wektora. Odkrycia te sugerują, że przenoszenie myksowirusów przez komary nie odbywa się na zasadzie mechanicznego „zanieczyszczenia” zewnętrznych powierzchni narządów gębowych wektora, lecz wirus wykazuje specyficzne powinowactwo z określonymi tkankami owada, co upodabnia sposób jego przenoszenia do niekrażeniowego przenoszenia wirusów roślinnych.

#### ZAKOŃCZENIE

Poznanie mechanizmów odpowiedzialnych za przenoszenie przez stawonogi, nicienie lub grzyby wirusów porażających kręgowce lub rośliny nie jest możliwe bez wyjaśnienia złożonego układu wzajemnych zależności między wirusem, wektorem i gospodarzem wirusa. Warto

zauważyć, że gospodarzem wirusa może być nie tylko roślina lub kręgowiec, lecz jest nim niekiedy również wektor, w organizmie którego wirus znajduje odpowiednie warunki do replikacji. Zdolnością namnażania się w wektorze charakteryzują się przede wszystkim wirusy zwierzę-



ce. Właściwość ta sprawia, że określenie cyklu życiowego wirusów zwierzęcych jest trudniejsze, niż większości wirusów roślinnych.

Krazeniowe wirusy roślinne nie replikujące w tkankach wektora, na przykład luteowirusy, prawdopodobnie nie ulegają w wektorze istotnym zmianom morfologicznym. Niewątpliwie jednak środowisko przewodu pokarmowego lub hemolimfy stawonoga bardzo się różni od środowiska komórki roślinnej. Obecność różnych enzymów sprawia, że nie jest ono obojętne, a może nawet być nieprzyjazne dla wirusa. Wiriony znajdują jednak sprzymierzeńca w postaci białka produkowanego przez bakterie *Buchnera* rozwijające się w organizmie wektora. Białko to, jak już wcześniej wspomniano, wiążąc się z wirionem tworzy strukturę, która prawdopodobnie chroni wirus przed degradacją przez enzymy proteolityczne w hemolimfie wektora. Istotną rolę w interakcji między wirionem a białkiem bakteryjnym zdaje się odgrywać białko kapsydu wirusa.

Określone rodzaje białek kapsydu determinują zarówno zdolność przenoszenia wirusa, jak i specyfikę powiązań między wirusem a wektorem. Wirus może utracić zdolność przenoszenia przez swego wektora na skutek zaburzenia sekwencji aminokwasów w białku odpowiedzialnym za jego przenoszenie. Niekiedy jednak wirus może odzyskać tę zdolność w następstwie heterologicznej enkapsydacji. Co więcej, efektem tego zjawiska może być również przeniesienie biologicznych właściwości wirusa

związanych z funkcjami białka kapsydu na inny wirus. Wirus „obdarowany” takim białkiem może zyskać razem z nim nowego wektora, mogą więc również zmienić się jego właściwości epidemiologiczne. Nie wiadomo jednak, jakie są szanse utrwalenia się takiej nowej formy wirusa w środowisku naturalnym.

Heterologiczna enkapsydacja wydaje się być w naturze zjawiskiem dość częstym wśród niektórych wirusów roślinnych (SYLLER 2000b). Przybywa dowodów, że montowanie wirionu w komórkach rośliny-gospodarza nie jest procesem wymagającym specyficznego rozpoznania między białkiem a kwasem nukleinowym (MAYO i ZIEGLER-GRAFF 1996). Świadczą o tym również niedawne odkrycia dotyczące zdolności enkapsydacji wiroida wrzecionowatości bulw ziemniaka (PSTVd) białkiem PLRV w roślinie porażonej obydwoma patogenami (QUERCI i współaut. 1997, SYLLER i współaut. 1997). Wiroid jest patogenem w postaci wolnego kwasu nukleinowego (RNA), czyli jego cząstka nie posiada białka, w związku z czym nie jest on przenoszony przez mszyce w swej typowej postaci. Jednak po upakowaniu w białko PLRV, wiroid ten może być efektywnie przenoszony przez mszyce *M. persicae*, wektora PLRV. Istnienie tego zjawiska jest kolejnym dowodem na to, że w naturze rozwijają się różnorodne formy współdziałania między patogenami a stawonogami, które ułatwiają patogenom pozyskiwanie nowych żywicieli, zapewniając w ten sposób trwanie gatunku.

## MECHANISMS OF TRANSMISSION OF PLANT AND ANIMAL VIRUSES BY ARTHROPODS

### Summary

Numerous arthropod species have been identified to transmit plant and animal viruses. To survive in nature, many arthropod-transmitted viruses have evolved interesting and biologically complex relationships with their vectors. The majority of plant-infecting viruses are associated with insects possessing piercing-sucking mouthparts, i.e. aphids, leafhoppers and whiteflies. Plant viruses are transmitted in a circulative (persistent) or noncirculative (non-persistent or semipersistent) manner, and most of them are not able to replicate in their vectors. The above classification may also be used for animal-infecting viruses. Many of them are transmitted by blood-feeding insects and ticks. Unlike plant viruses, numerous animal viruses, especially arbo-

viruses, can infect their vectors and propagate in their tissues. In recent years, much progress has been achieved in elucidating the molecular bases of virus-vector associations as well as in identifying the proteins regulating virus transmission by arthropods. This review presents the current knowledge of the essential mechanisms governing transmission of plant viruses by arthropod vectors. The functions of the viral capsid protein and those of the proteins synthesized by endosymbiotic bacteria in the aphid haemolymph are described. The paper also discusses hypothetical role of a helper component induced in plants infected with plant viruses showing a noncirculative association with their aphid vectors.

### LITERATURA

- AMMAR E. D., 1994. *Propagative transmission of plant and animal viruses by insects: factors affecting vector specificity and competence*. Adv. Dis. Vector Res. 10, 289-331.
- BAHNER I., LAMB J., MAYO M. A., HAY R. T., 1990. *Expression of the genome of potato leafroll virus: readthrough of the coat protein termination codon in vivo*. J. Gen. Virol. 71, 2251-2256.
- BLANC S., LOPEZ MOYA J. J., WANG R., GARCIA LAMPASONA S., THORNBURY D.W., PIRONE T. P., 1997. *A specific interaction between coat protein and helper component correlates with aphid transmission of a potyvirus*. Virology 231, 141-147.
- BOURDIN D., LECOQ H., 1991. *Evidence that heteroencapsidation between two potyviruses is involved in aphid*

- transmission of a non-aphid-transmissible isolate from mixed infections. *Phytopathology* 81, 1459–1464.
- BRUYÈRE A., BRAULT V., ZIEGLER-GRAFF V., SIMONIS M. T., VAN DEN HEUVEL J. F. J. M., RICHARDS K., GUILLEY H., JONARD G., HERRBACH E., 1997. *Effects of mutations in the beet western yellows virus readthrough protein on its expression and packaging, and on virus accumulation, symptoms and aphid transmission.* *Virology* 230, 323–334.
- CARN V. M., 1996. *The role of dipterous insects in the mechanical transmission of animal viruses.* *Br. Vet. J.* 152, 377–393.
- CHAY C. A., GUNASINGHE U. B., DINESH-KUMAR S. P., MILLER W. A., GRAY S. M., 1996. *Aphid transmission and systemic plant infection determinants of barley yellow dwarf luteovirus-PAV are contained in the coat protein readthrough domain and 17-kDa protein, respectively.* *Virology* 219, 57–65.
- D'ARCY C. J., NAULT L. R., 1982. *Insect transmission of plant viruses and mycoplasma-like and rickettsialike organisms.* *Plant Dis.* 66, 99–104.
- DAVIES J. W., STANLEY J., 1989. *Geminivirus genes and vectors.* *Trends Genet.* 5, 77–81.
- GAL-ON A., ANTIGNUS Y., ROSNER A., RACCAH B., 1992. *A zucchini yellow mosaic virus coat protein gene mutation restores aphid transmissibility but has no effect on multiplication.* *J. Gen. Virol.* 73, 2183–2187.
- GILDOW F. E., 1993. *Evidence for receptor-mediated endocytosis regulating luteovirus acquisition by aphids.* *Phytopathology* 83, 270–277.
- GILDOW F. E., 1999. *Luteovirus transmission and mechanisms regulating vector specificity.* [W:] *The Luteoviridae.* SMITH H. G., BARKER H. (red.). CAB International, Wallingford, United Kingdom, 88–112.
- GILDOW F. E., GRAY S. M., 1993. *The aphid salivary gland basal lamina as a selective barrier associated with vector-specific transmission of barley yellow dwarf luteovirus.* *Phytopathology* 83, 1293–1302.
- GOVIER D. A., KASSANIS B., PIRONE T. P., 1977. *Partial purification and characterization of the potato virus Y helper component.* *Virology* 78, 306–314.
- GRAY S. M., 1996. *Plant virus proteins involved in natural vector transmission.* *Trends Microbiol.* 4, 259–264.
- GRAY S. M., BANERJEE N., 1999. *Mechanisms of arthropod transmission of plant and animal viruses.* *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63, 128–148.
- HARRIS K. F., 1977. *An ingestion-egestion hypothesis of noncirculative virus transmission.* [W:] *Aphids as Virus Vectors.* HARRIS K. F., MARAMOROSCH K. (red.). Academic Press Inc., New York, 165–220.
- HARRIS K. F., 1990. *Aphid transmission of plant viruses.* [W:] *Plant Viruses, Vol. 2, Pathology.* MANDAHAR C. L. (red.). CRC Press, Boca Raton, FL, 177–204.
- MAYO M. A., ZIEGLER-GRAFF V., 1996. *Molecular biology of luteoviruses.* *Adv. Virus Res.* 46, 413–460.
- MURANT A. F., 1990. *Specificity and recognition events in the transmission of plant viruses by vectors.* [W:] *Recognition and Response in Plant-Virus Interactions.* NATO ASI Series, Series H: Cell Biology, tom 41, FRASER R. S. S. (red.). Springer Verlag Berlin Heidelberg, 53–70.
- NUTTALL P., JONES L. D., DAVIES C. R., 1991. *The role of arthropod vectors in arbovirus evolution.* *Adv. Dis. Vector Res.* 8, 15–45.
- PIRONE T. P., 1977. *Accessory factors in nonpersistent virus transmission.* [W:] *Aphids as Virus Vectors.* HARRIS K. F., MARAMOROSCH K. (red.). Academic Press Inc., New York, 221–235.
- PIRONE T. P., 1981. *Efficiency and selectivity of the helper-component-mediated aphid transmission of purified potyviruses.* *Phytopathology* 71, 922–924.
- PIRONE T. P., BLANC S., 1996. *Helper-dependent vector transmission of plant viruses.* *Annu. Rev. Phytopathol.* 34, 227–247.
- PIRONE T. P., THORNBURY D. W., 1983. *Role of virion and helper component in regulating aphid transmission of tobacco etch virus.* *Phytopathology* 73, 872–875.
- QUERCI M., OWENS R. A., BARTOLINI I., LAZARTE V., SALAZAR L. F., 1997. *Evidence for heterologous encapsidation of potato spindle tuber viroid in particles of potato leafroll virus.* *J. Gen. Virol.* 78, 1207–1211.
- ROCHOW W. F., 1977. *Dependent virus transmission from mixed infections.* [W:] *Aphids as virus vectors.* HARRIS K. F., MARAMOROSCH K. (red.). Academic Press Inc., New York, 253–273.
- SAKO N., OGATA K., 1981. *Different helper factors associated with aphid transmission of some potyviruses.* *Virology* 112, 762–765.
- SAKO N., YOSHIOKA K., EGUCHI K., 1984. *Mediation of helper component in aphid transmission of some potyviruses.* *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 50, 515–521.
- SMITH K. M., 1976. *Virus — insect relationships.* Longman, London and New York.
- SYLLER J., 2000a. *Plant virus — vector interactions involved in dependent transmission of viral agents by aphids.* *Bull. Polish Acad. Sciences, Biol. Sciences* 48, 183–196.
- SYLLER J., 2000b. *Heterologous encapsidation in transmission of plant viral particles by aphid vectors.* *Acta Microb. Polon.* 49, 5–18.
- SYLLER J., MARCZEWSKI W., PAWŁOWICZ J., 1997. *Transmission by aphids of potato spindle tuber viroid encapsidated by potato leafroll luteovirus particles.* *Eur. J. Plant Pathol.* 103, 285–289.
- TALIANSKY M., BARKER H., 1999. *Movement of luteoviruses in infected plants.* [W:] *The Luteoviridae.* SMITH H. G., BARKER H. (red.). CAB International, Wallingford, United Kingdom, 69–83.
- TURELL M. J., 1988. *Horizontal and vertical transmission of viruses by insect and tick vectors.* [W:] *The Arboviruses: Epidemiology and Ecology*, tom I. MONATH T. P. (red.). CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla, 127–152.
- VAN DEN HEUVEL J. F. J. M., 1999. *Fate of a luteovirus in the haemolymph of an aphid.* [W:] *The Luteoviridae.* SMITH H. G., BARKER H. (red.). CAB International, Wallingford, United Kingdom, 112–119.
- WANG R. Y., AMMAR E. D., THORNBURY D. W., LOPEZ MOYA J. J., PIRONE T. P., 1996. *Loss of potyvirus transmissibility and helper-component activity correlate with non-retention of virions in aphid stylets.* *J. Gen. Virol.* 77, 861–867.
- WANG J. Y., CHAY C., GILDOW F. E., GRAY S. M., 1995. *Readthrough protein associated with virions of barley yellow luteovirus and its potential role in regulating the efficiency of aphid transmission.* *Virology* 206, 954–962.
- WEAVER S. C., 1997. *Vector biology in arboviral pathogenesis.* [W:] *Viral Pathogenesis.* NATHANSON N. (red.). Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, Pa, 329–352.