



Università degli Studi
"Aldo Moro" - Bari



Consiglio Nazionale delle
Ricerche

LA BIODIVERSITA' NEI VIRUS FITOPATOGENI

G.P. Martelli

*Dipartimento di Biologia e Chimica Agro-Forestale ed Ambientale
Università dagli Studi "Aldo Moro" Bari, Sezione di Patologia Vegetale e
Istituto di Virologia Vegetale del CNR, UOS di Bari*

VIRUS: DEFINIZIONE

I virus sono entità biologiche di dimensioni submicroscopiche (si misurano in nanometri = milionesimi di millimetro), in grado di replicarsi esclusivamente all'interno di una cellula ospite. La parte infettiva, costituita da una o più molecole di acido nucleico (RNA ovvero DNA), è contenuta in un involucro protettivo di natura proteica (capside) o lipoproteica.

ORIGINE DEI VIRUS

L'assenza di virus fossili rende difficile la datazione della loro "nascita". Controversa ne è anche l'origine, sulla quale sono state formulate diverse ipotesi:

-Discendenza da forme primitive di vita pre-cellulare. Idea riveniente dal fatto che i più antichi polimeri pre-biotici erano RNA con proprietà enzimatiche catalitiche, i quali, ad un certo momento, avrebbero iniziato il parassitismo delle cellule primigenie.

-Sviluppo da costituenti normali delle cellule (elementi trasponibili, RNA messaggeri) che, sfuggiti ai normali meccanismi di controllo cellulari, sono divenute entità auto-replicantesi.

-Origine da cellule degenerate che hanno parassitizzato quelle normali.

LA “SCOPERTA” DEI VIRUS

Ancorchè alcune malattie dell'uomo (vaiolo, rabbia) e delle piante (giallumi, degenerazione della patata) fossero note fin dall'antichità, alla scoperta dei virus si è giunti solo alla fine del 1800

Il merito va a tre scienziati. Ma è stato l'ultimo di essi (M.W. Beijerinck) ad intuire che i virus erano entità a se stanti del tutto diverse dai microrganismi noti all'epoca



A.E. Mayer
Chimico

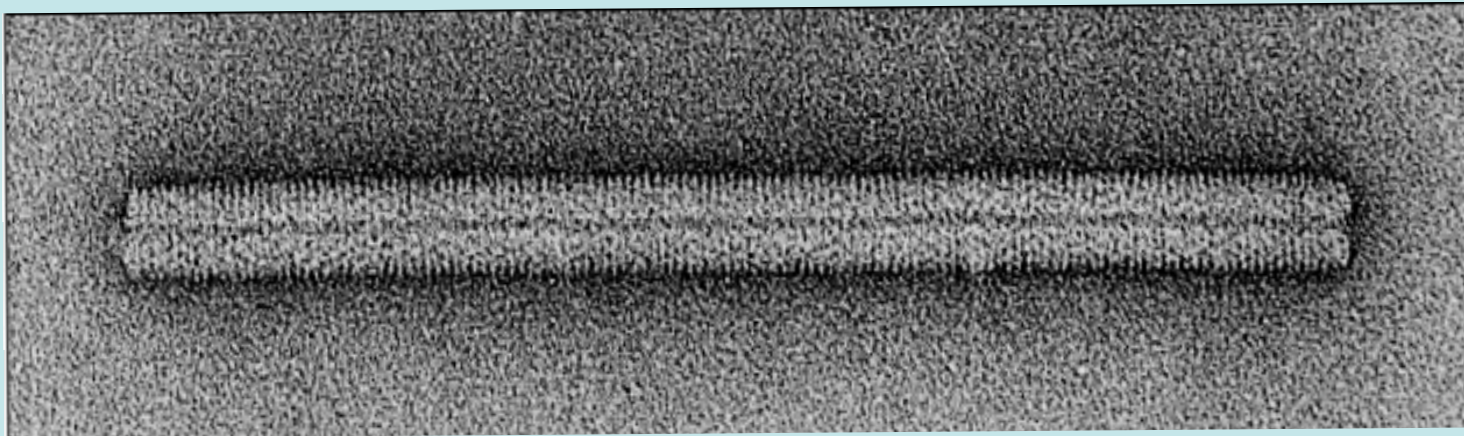


D. Ivanovsky
Microbiologo



M.W. Beijerinck
Botanico

Il primo virus ad essere "scoperto" è stato l'agente del mosaico del tabacco (TMV) un fitovirus ad RNA con particelle a forma di bastoncino rigido



Il TMV vanta molti primati

Purificazione e cristallizzazione (1935)

Determinazione della forma delle particelle (1937)

Osservazione al microscopio elettronico (1939)

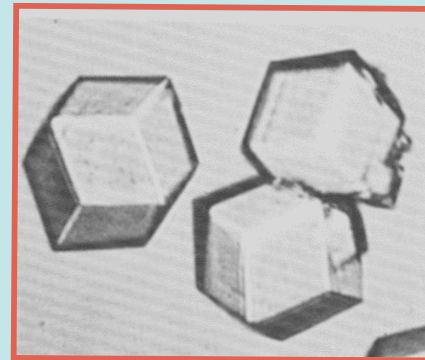
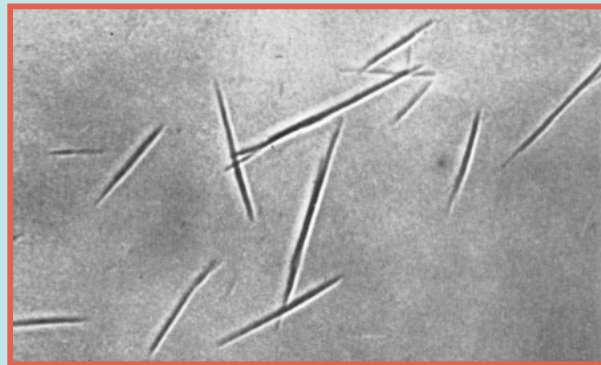
Separazione nei due componenti (RNA e proteina capsidica) e riassemblaggio (1955)

Infettività dell'RNA, suo acido nucleico (1956)

Sequenza della proteina capsidica (1960)

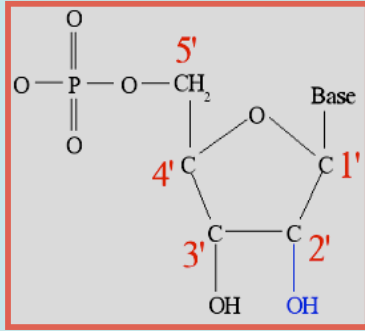
Identificazione della proteina di movimento (1987)

Cristalli di
TMV



Cristalli di
TBSV

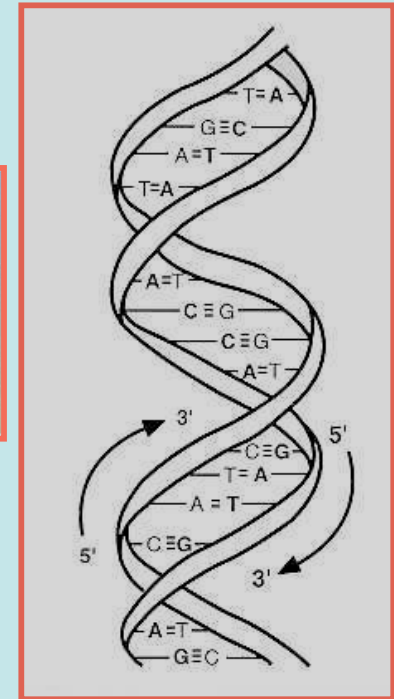
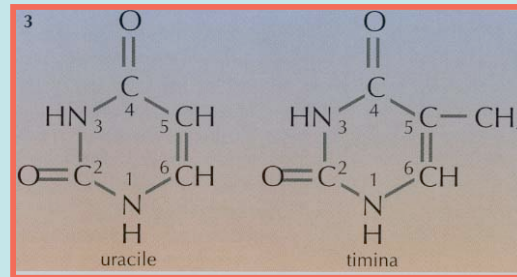
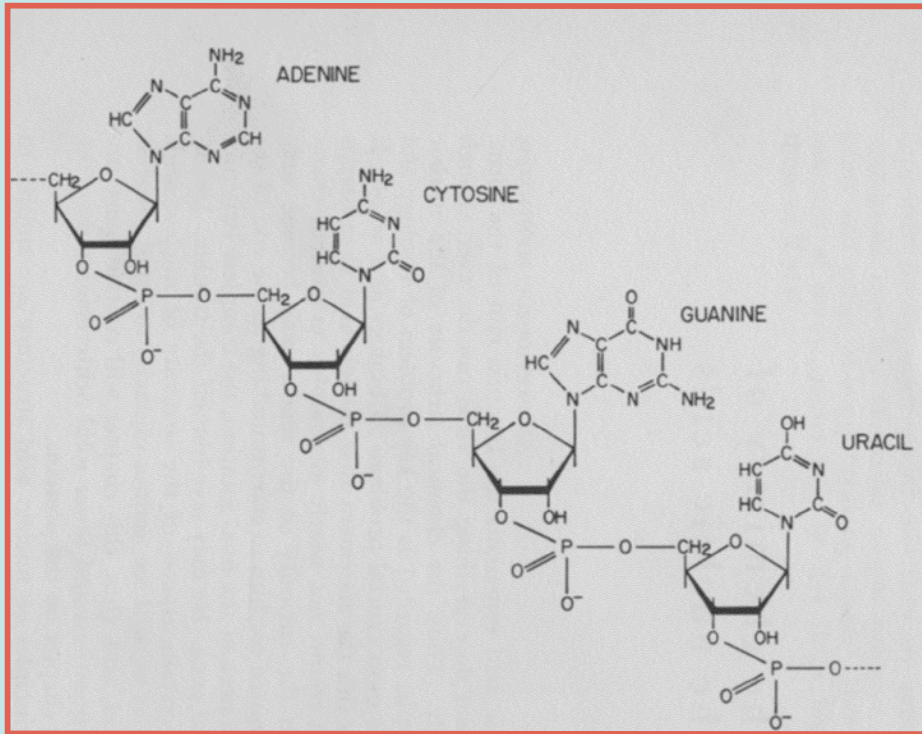
COSTITUENTI DEI VIRUS: ACIDI NUCLEICI



Polimeri di nucleotidi costituiscono il genoma virale, depositario delle informazioni genetiche

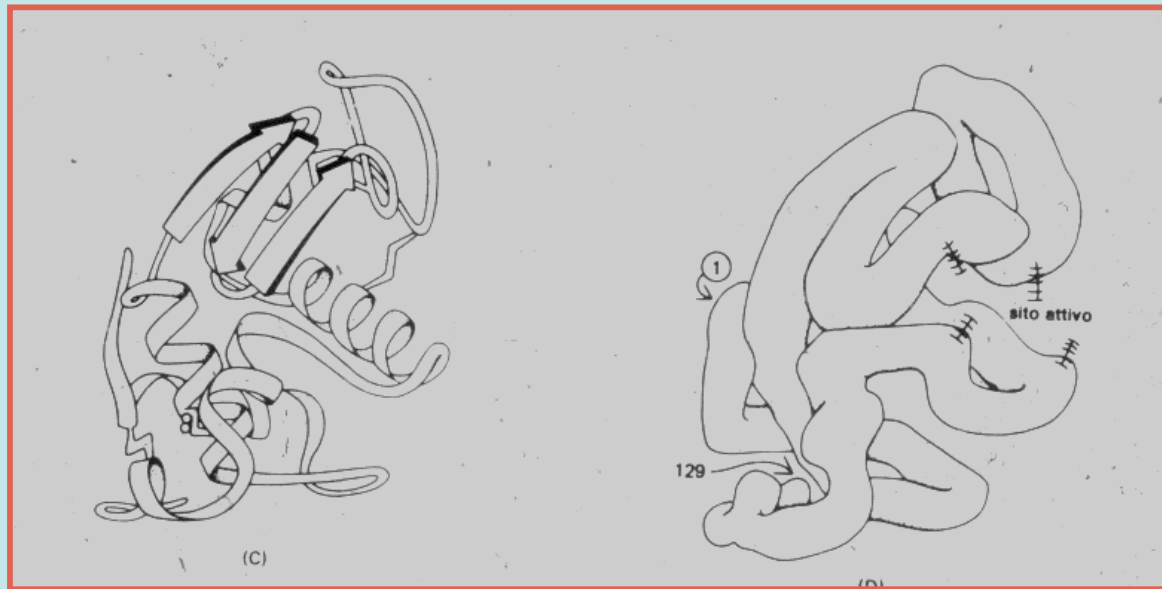
RNA

DNA



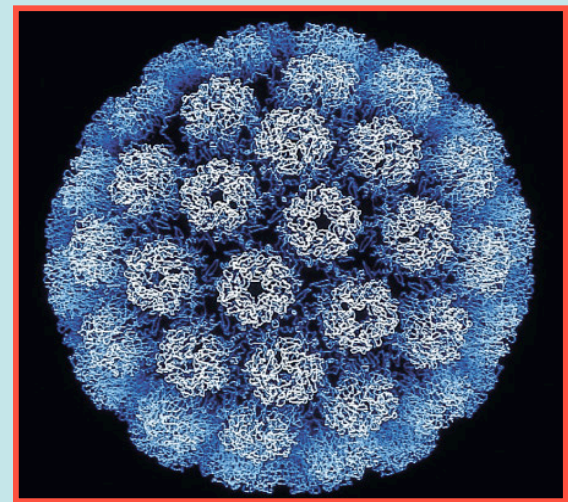
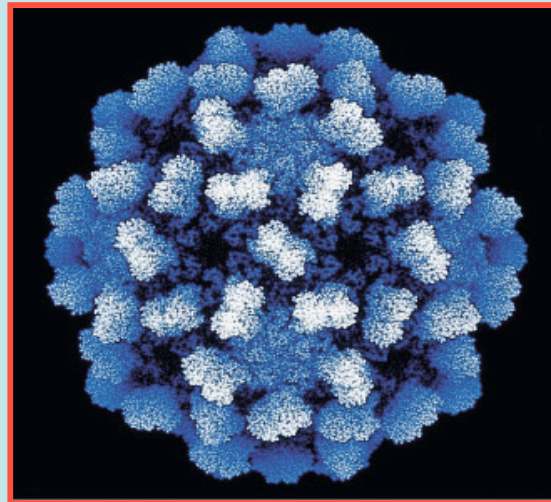
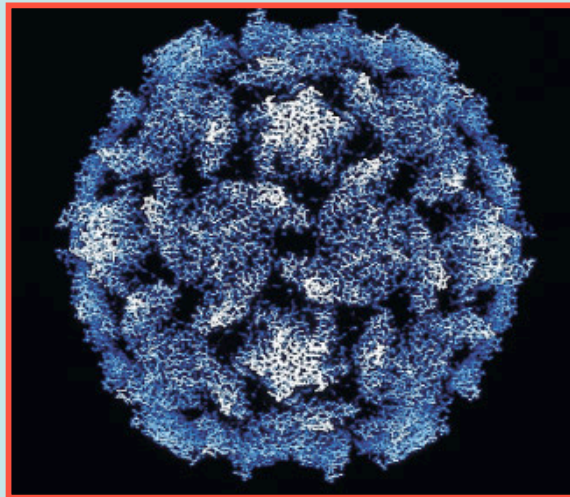
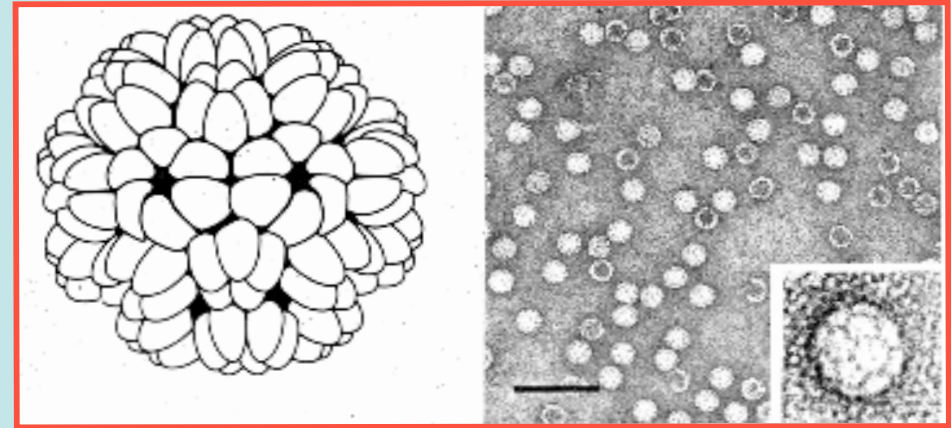
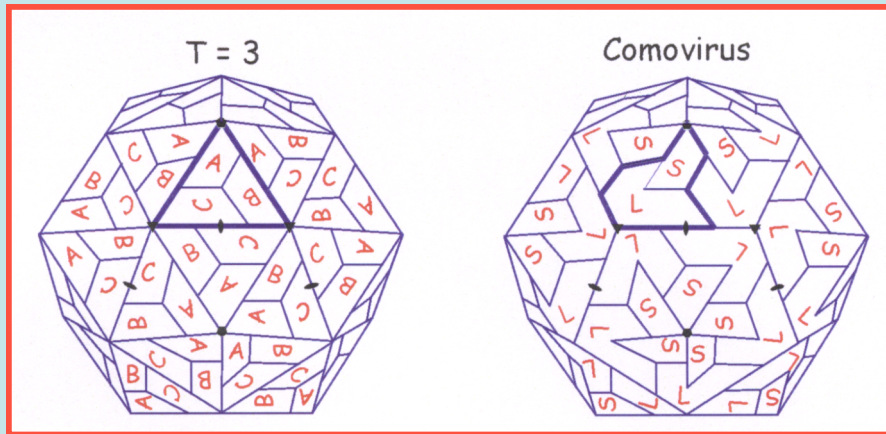
COSTITUENTI DEI VIRUS: PROTEINE

Le proteine del capsid virale hanno la stessa composizione aminoacidica di quelle animali e vegetali

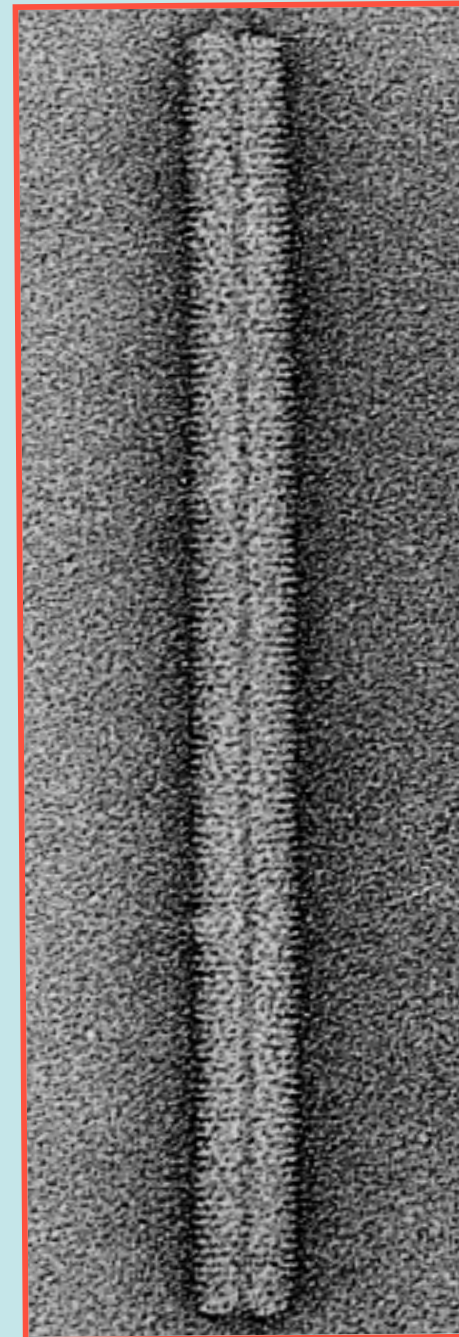
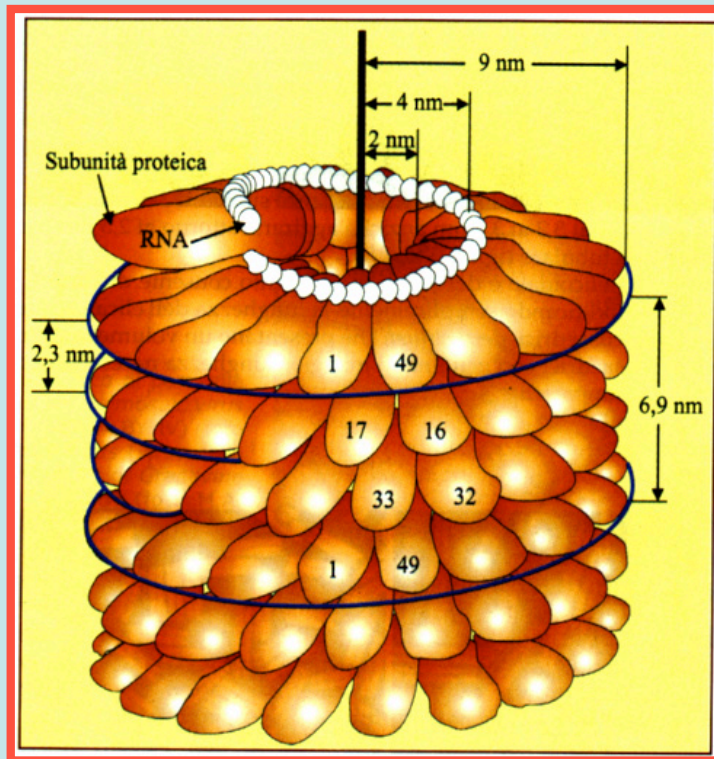


Struttura terziaria di una subunità capsidica di un fitovirus

Struttura di virus con particelle isodiametriche (icosaedro, simmetria cubica)



Struttura di un virus con particelle allungate (simmetria elicoidale)

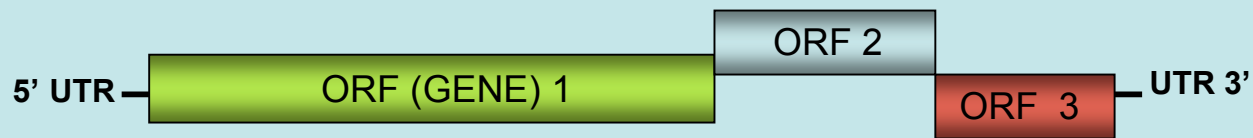


I FITOVIRUS

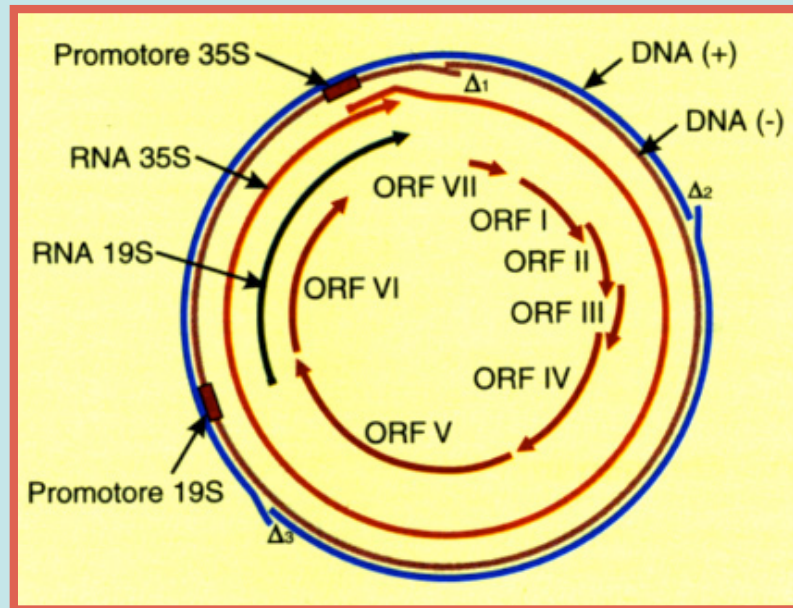
I virus delle piante, o fitovirus, infettano gli ospiti causando malattie, anche distruttive, ovvero infezioni latenti senza manifestazioni di sintomi esteriori.

I fitovirus a tutt'oggi caratterizzati sono circa 1500, una piccola, se non minima parte di quelli esistenti in natura.

Al pari dei virus degli animali (vertebrati, insetti), funghi e procarioti (batteri), i fitovirus hanno un genoma ad **RNA** (lineare a singola a doppia elica) o a **DNA** (circolare a singola o doppia elica)



**Genoma lineare
di un
virus ad RNA**

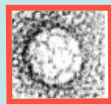


**Genoma circolare
di un
virus a DNA**

La dimensione dei genomi dei fitovirus varia da ca. 3.600 basi azotate, in grado di esprimere 4-5 proteine a ca. 20.000 basi azotate con capacità codificante di 12 proteine

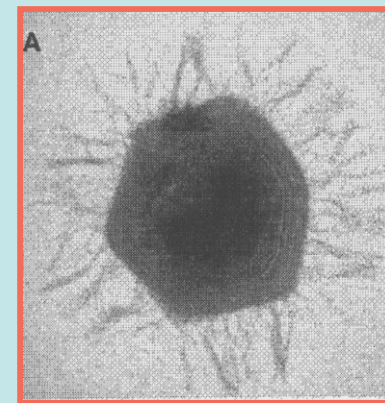
Questo è molto poco a confronto dei Mimivirus delle amebe, noti anche col nome di "*giant viruses*", che hanno genomi di ca. 1.200.000 basi e codificano oltre 900 diverse proteine

Fitovirus
icosaedrico



30 nm

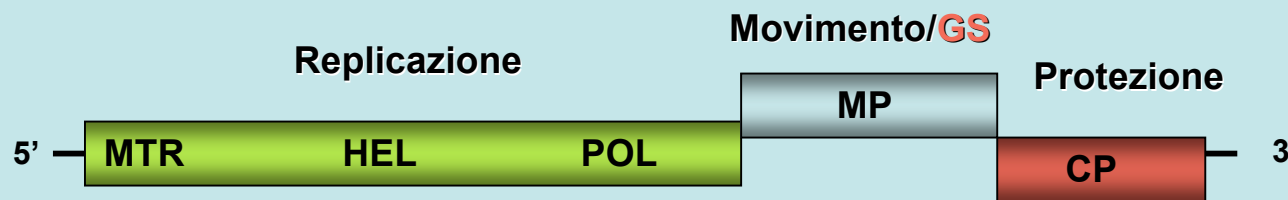
Mimivirus



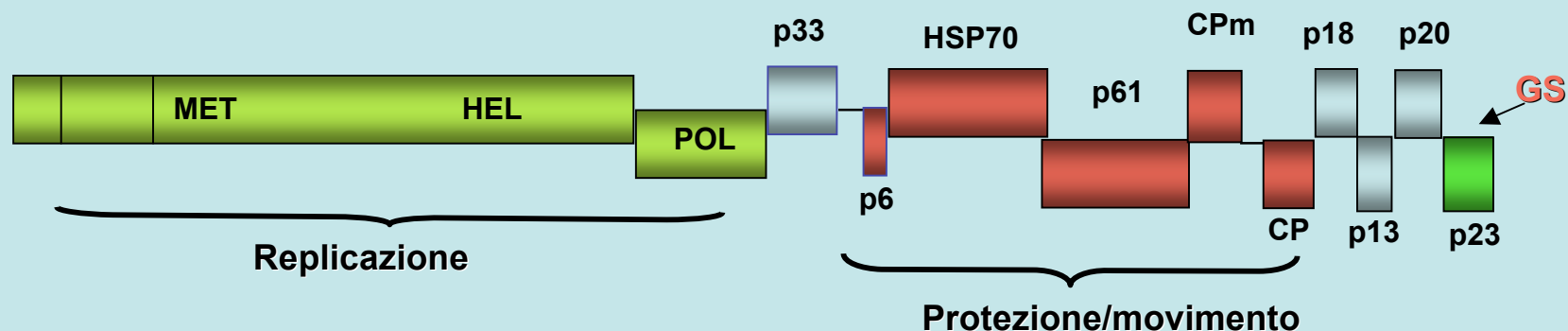
750 nm

Le funzioni essenziali codificate dai genomi dei fitovirus sono quattro: **replicazione** (polimerasi), **diffusione nell'ospite** (proteine di movimento), **protezione dell'acido nucleico** (capside), **soppressione del silenziamento genico (GS)** operato dall'ospite.

Queste funzioni sono presenti nei genomi più semplici

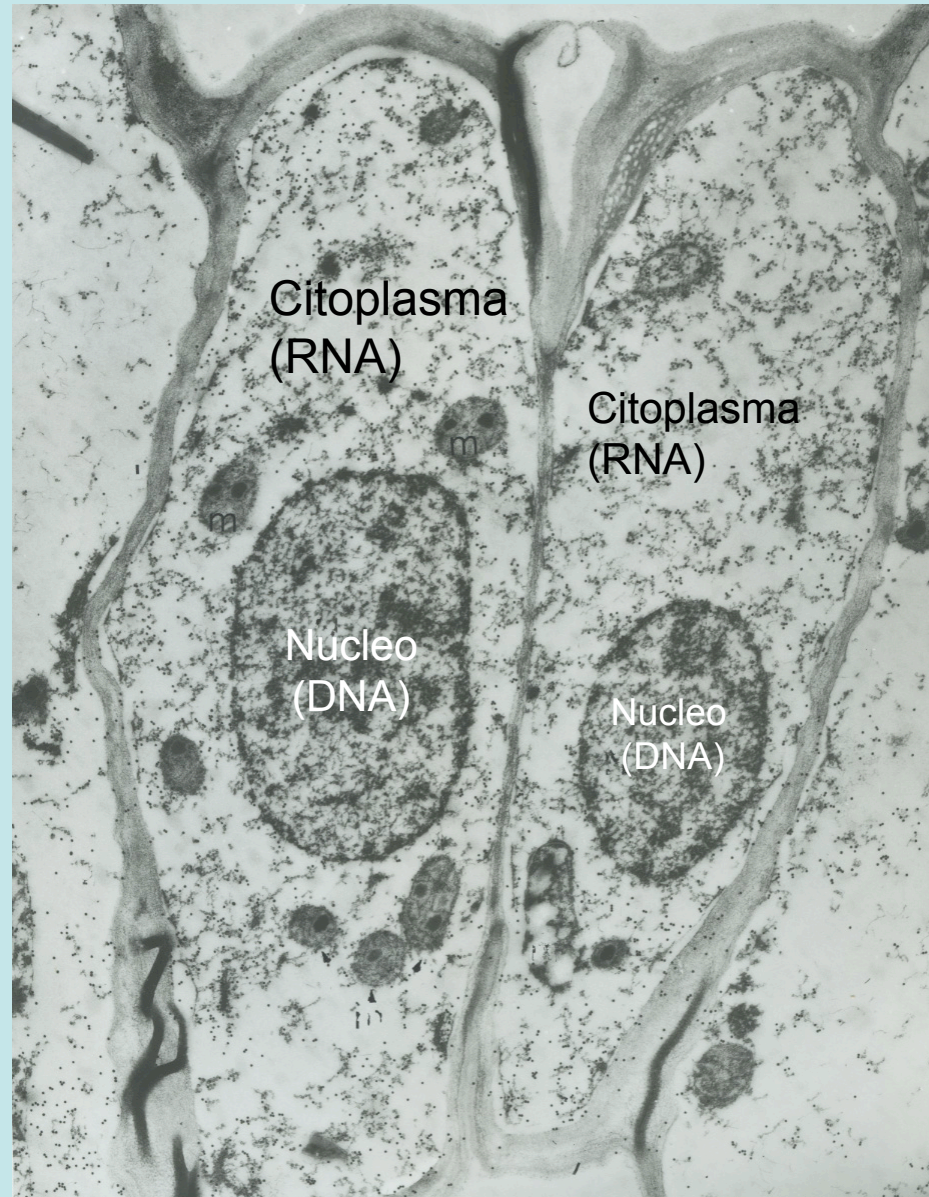


e più complessi



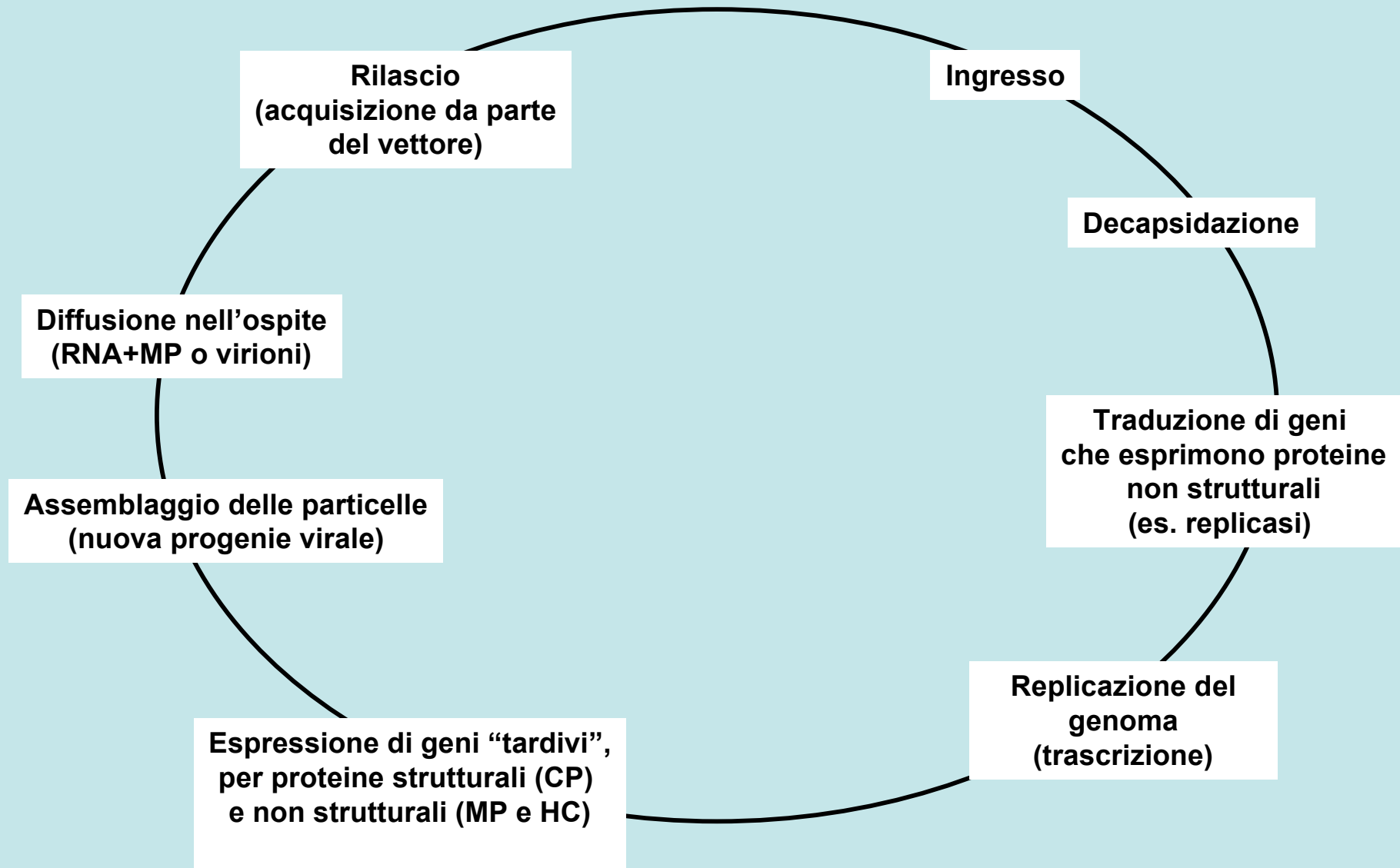
Dove si replicano i fitovirus?

Cellule vegetali



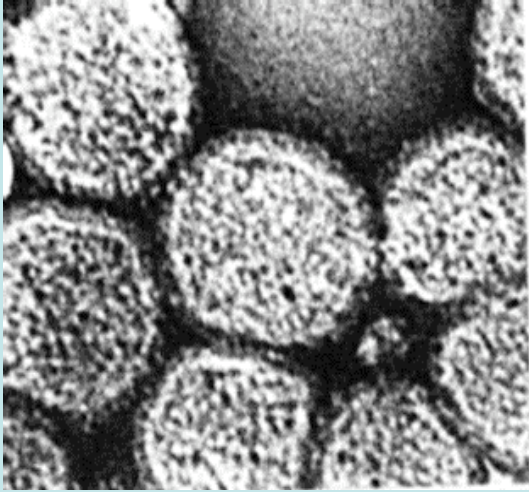
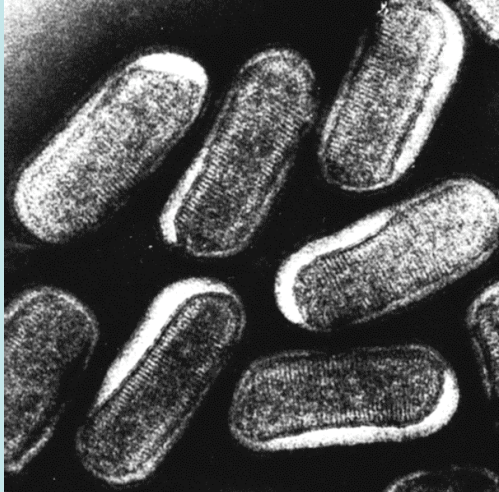
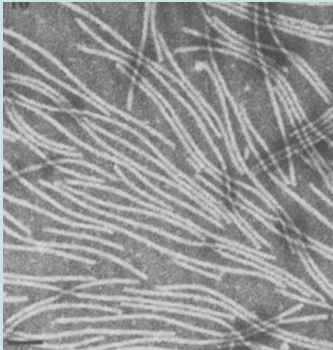
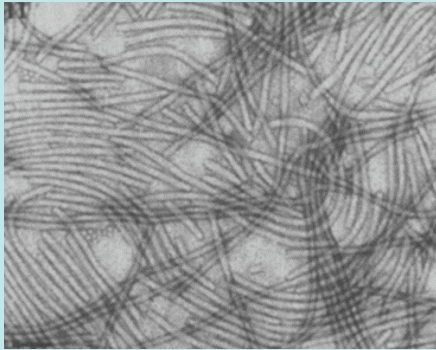
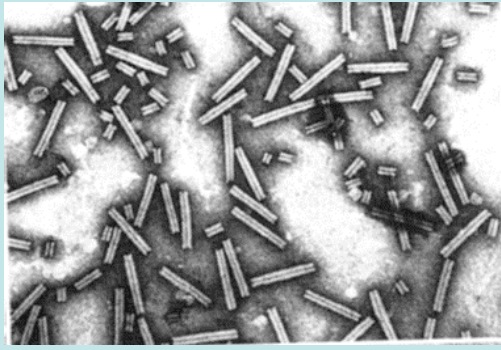
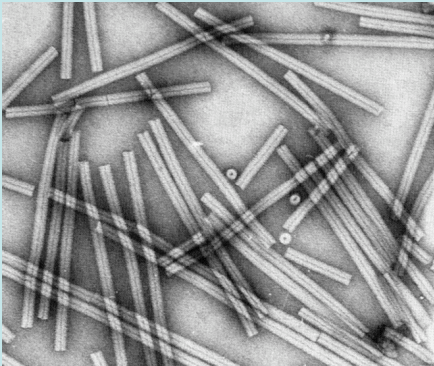
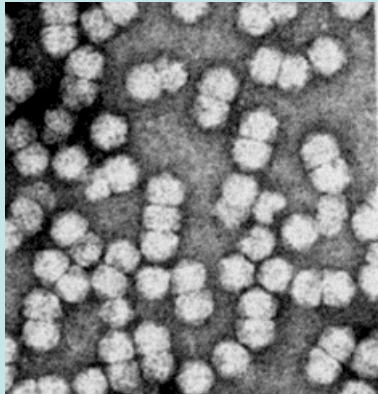
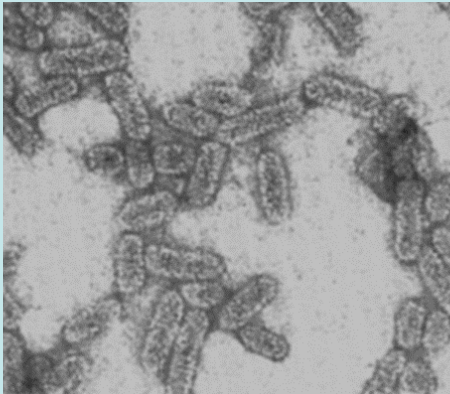
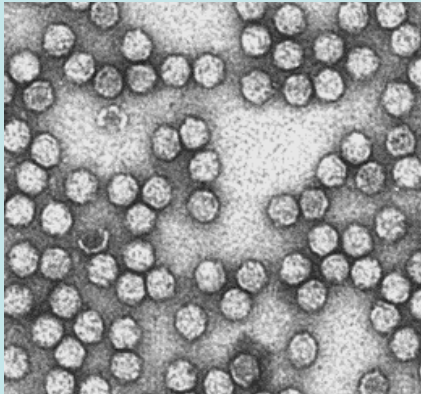
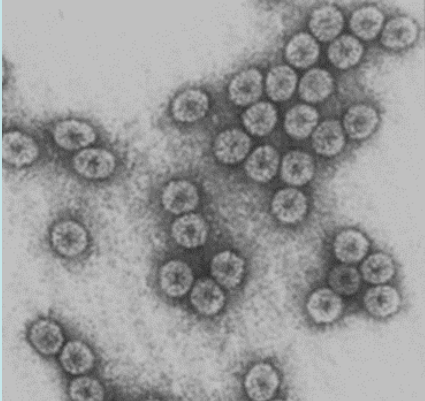
Come si replicano i fitovirus?

Ciclo replicativo di un fitovirus ad RNA



BIODIVERSITA' NEI FITOVIRUS

Variabilità nella forma delle particelle virali (biodiversità fenotipica)



FONDAMENTI MOLECOLARI DELLA BIODIVERSITA'

Il concetto di quasi specie

I meccanismi di speciazione ed evoluzione

QUASISPECIE

La variabilità è insita nell'essenza stessa dei virus, i quali più che come ben definite specie linneiane, esistono in natura come "quasispecie", cioè come una eterogenea popolazione di sequenze genomiche che coesistono con la sequenza tipo ("master sequence") che è quella che meglio si adatta ad un determinato ambiente.

Ne consegue che la natura di quasispecie è uno degli elementi determinanti la biodiversità dei virus

ESEMPLIFICAZIONE DI QUASISPECIE

Sequenza “master”

AUG AAA ACC UUC UGG UAU GUU GUC UAA CAC GAG UCA UGA

Sciame di varianti molecolari

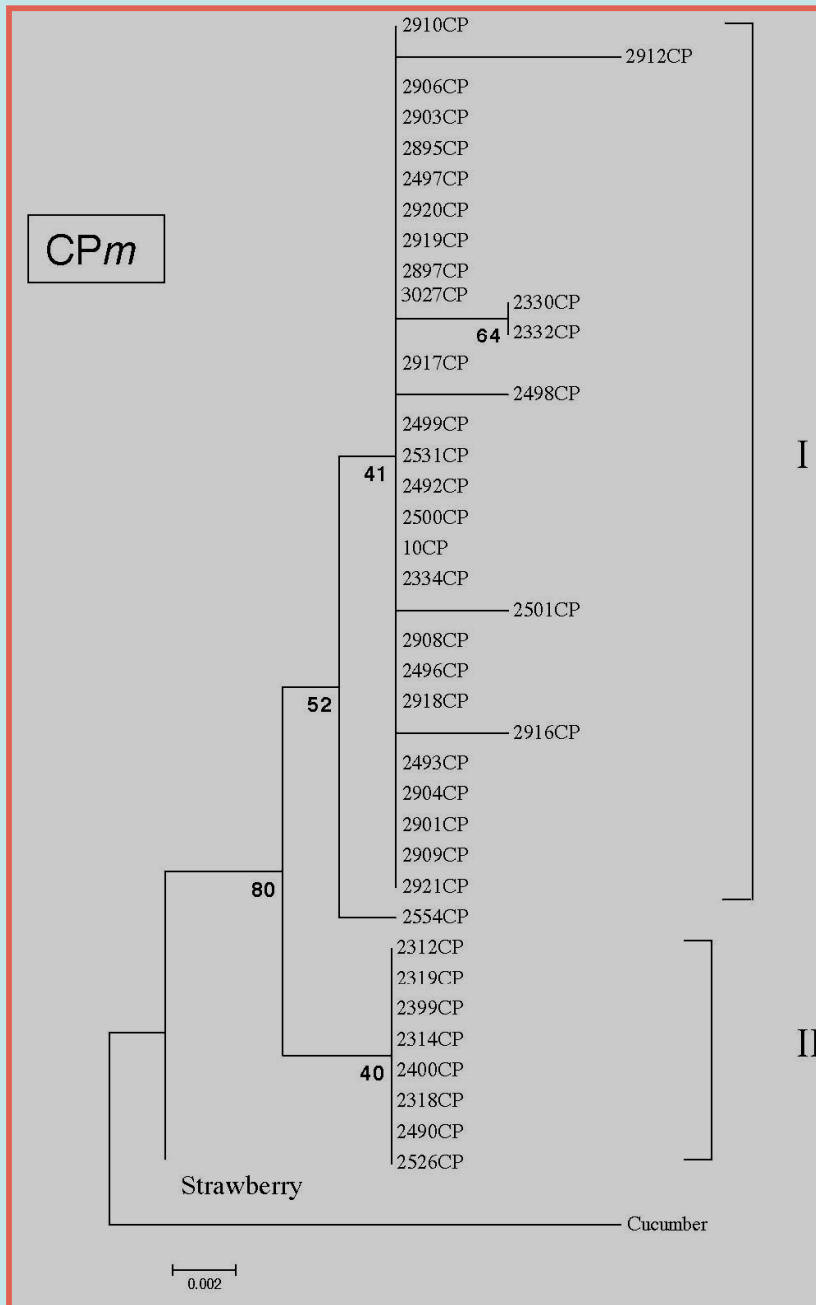
AUG **G**AA ACC UUC UGG UAU GUU GU**U** UAA CAC GAG UCA UGA

AUG AAA AC**A** UUC UGG UAU GUC**C** GUC UAA CA**A** GAG UCA UGA

AUG AAA ACC UU**U** UGG UAU GUU GUC UA**U** CAC GAG U**G**A UGA

AUG AAA ACC UUC UG**A** UA**C** GUU GUC UAA CAC GA**U** UCA UGA

AUG AA**U** ACC UUC UGG UAU GU**A** GUC UAA CAC GAG UCA UGA



Albero filogenetico
costruito con le sequenze
della proteina capsidica di
40 isolati di uno stesso
closterovirus

FONDAMENTI MOLECOLARI DELLA BIODIVERSITA'

Il concetto di quasi specie

I meccanismi di speciazione ed evoluzione

MECCANISMI EVOLUTIVI MOLECOLARI

MICROEVOLUZIONE

- Mutazioni dovute al cambio di una o più basi azotate
- Aggiunta o delezione di basi

MUTAZIONI

Mutazioni puntiformi dovute ad errori di lettura della sequenza madre (+) da parte delle RNA polimerasi RNA dipendenti possono verificarsi nel corso della trascrizione della molecola (+) in quella complementare (-)

+	AUG	AAA	UCU	CAA	GUG	UUU	CCC	UGG	GAG	CUG	UAG
-	UAC	UUC	AGA	GUG	CAC	AAA	GAA	ACC	CUC	GAU	AUC
		(U)		(U)		(GG)				(C)	
+	AUG	AAU	UCU	CAU	GUG	UUU	GGG	UGG	GAG	GAU	UAG

La frequenza di questo tipo di mutazioni è più alta nei virus ad RNA che in quelli a DNA la cui polimerasi ha una maggiore fedeltà di copiatura

1. IL CODICE GENETICO

		SECONDA BASE DELLA TRIPLETTA					
		U	C	A	G		
PRIMA BASE DELLA TRIPLETTA	U	UUU] phe	UCU]	UAU] tyr	UGU] cys	TERZA BASE DELLA TRIPLETTA	U
		UUC]	UCC] ser	UAC]	UGC]		C
	C	UUA] leu	UCA]	UAA - STOP	UGA - STOP		A
		UUC]	UCG]	UAG - STOP	UGG - try		G
	A	CUU] leu	CCU]	CAU] his	CGU]		U
		CUC]	CCC] pro	CAC]	CGC]		C
	G	CUA]	CCA]	CAA] gln	CGA] arg		A
		CUG]	CCG]	CAG]	CGG]		G
	U	AUU] ile	ACU]	AUU] asn	AGU] ser		U
		AUC]	ACC]	AAC]	AGC]		C
	C	AUA]	ACA] thr	AAA] lys	AGA] arg		A
		AUG - met		ACG]	AAG]		AGG]
A	GUU] val	GCU]	GAU] asp	GGU]	U		
	GUC]	GCC]	GAC]	GCC]	C		
G	GUA]	GCA] ala	GAA] glu	GGA] gly	A		
	GUG]	GCG]	GAG]	GGG]	G		

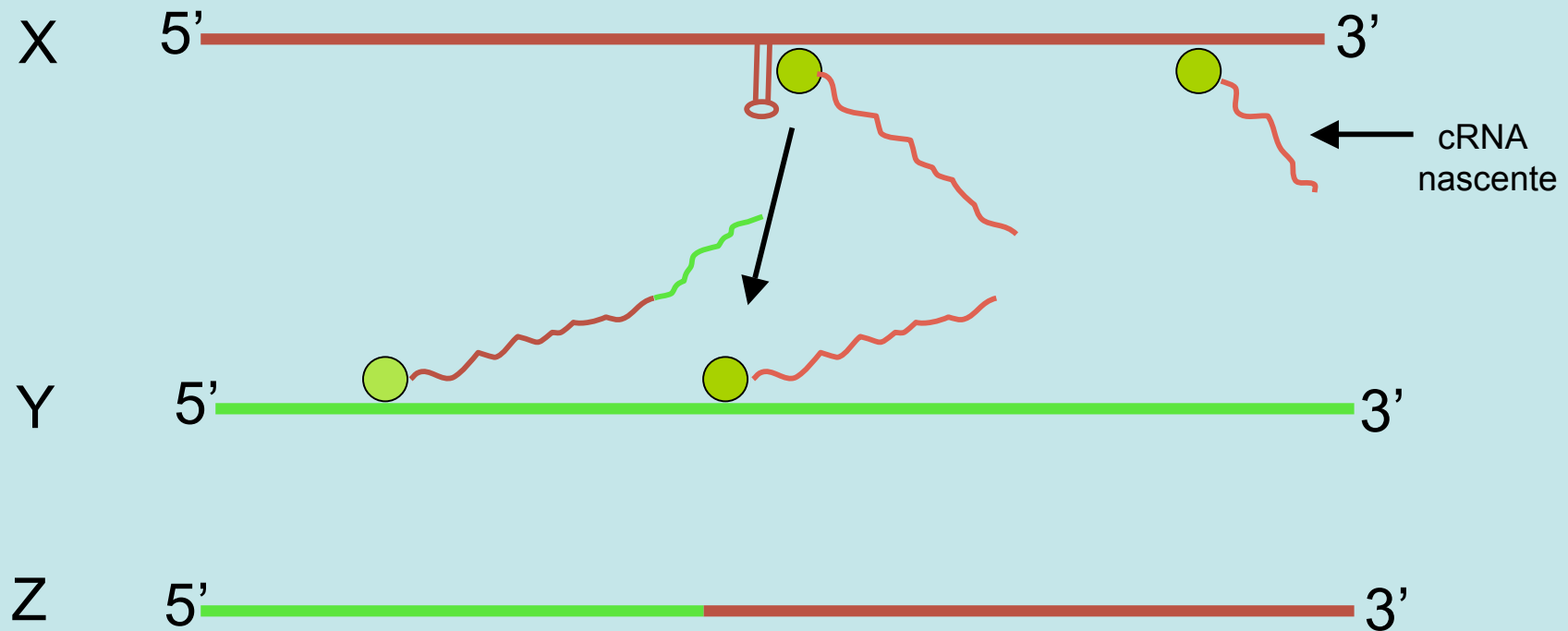
MECCANISMI EVOLUTIVI MOLECOLARI

Macroevoluzione

- Ricombinazione genica (scambio di sequenze genomiche all'interno di una stessa specie o tra specie diverse)
- Riassortimento genico (scambio di interi segmenti genomici quando il genoma è frazionato in due o più frammenti separati)
- Acquisizione di geni esogeni dall'ospite.
- Delezione o duplicazione di intere sequenze nucleotidiche

RICOMBINAZIONE

Nel corso della trascrizione (copiatura) dell'**RNA** genomico di un virus (X), se la polimerasi incontra un ostacolo, può distaccarsi e riagganciarsi all'**RNA** genomico di un altro virus (Y) presente nella stessa cellula. Ne risulta un terzo genoma (Z) ricombinante

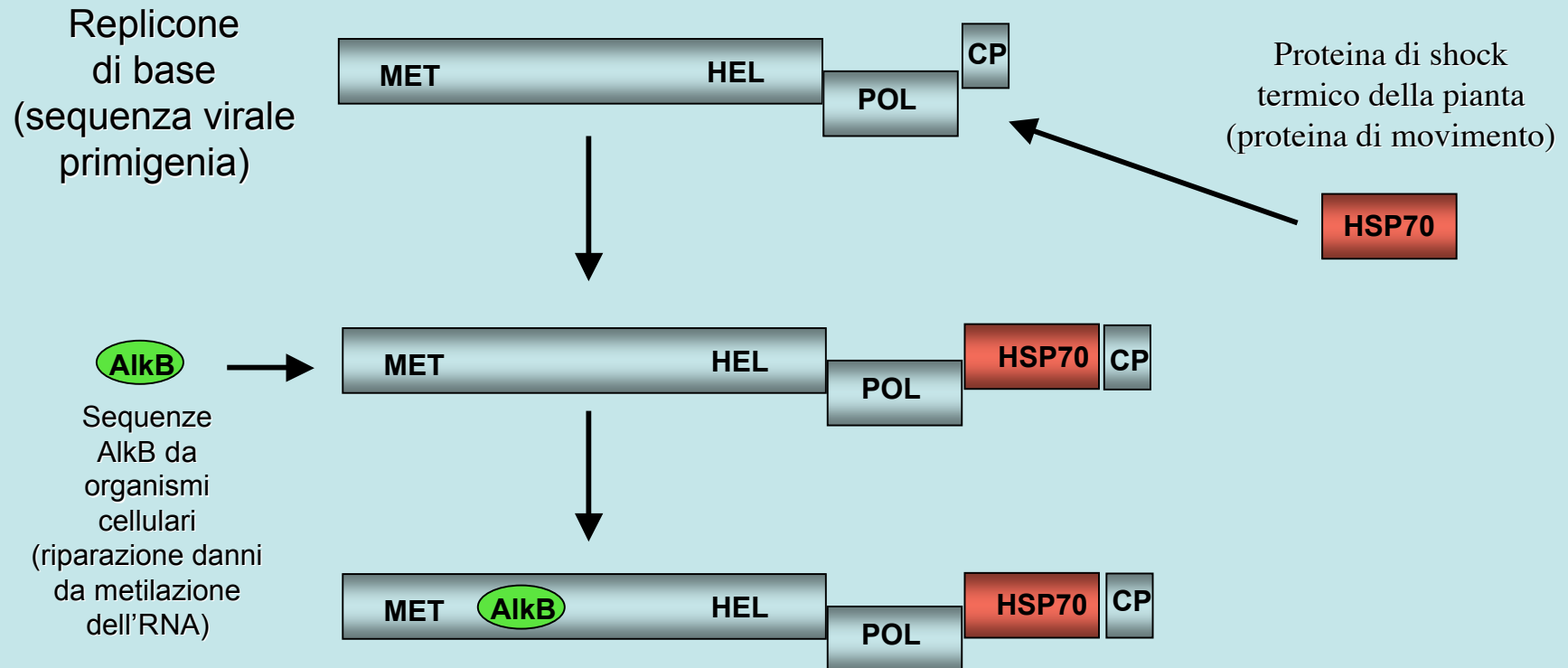




PSEUDORICOMBINAZIONE

Due ceppi di un virus con genoma tripartito (diviso in tre frammenti indipendenti di RNA) vengono acquisiti in successione da un afide vettore che li trasferisce insieme in un terzo ospite nel quale si moltiplicano dando origine alla teorica formazione di sei nuovi ceppi, ciascuno con una nuova diversa composizione genomica

ACQUISIZIONE DI SEQUENZE ESOGENE

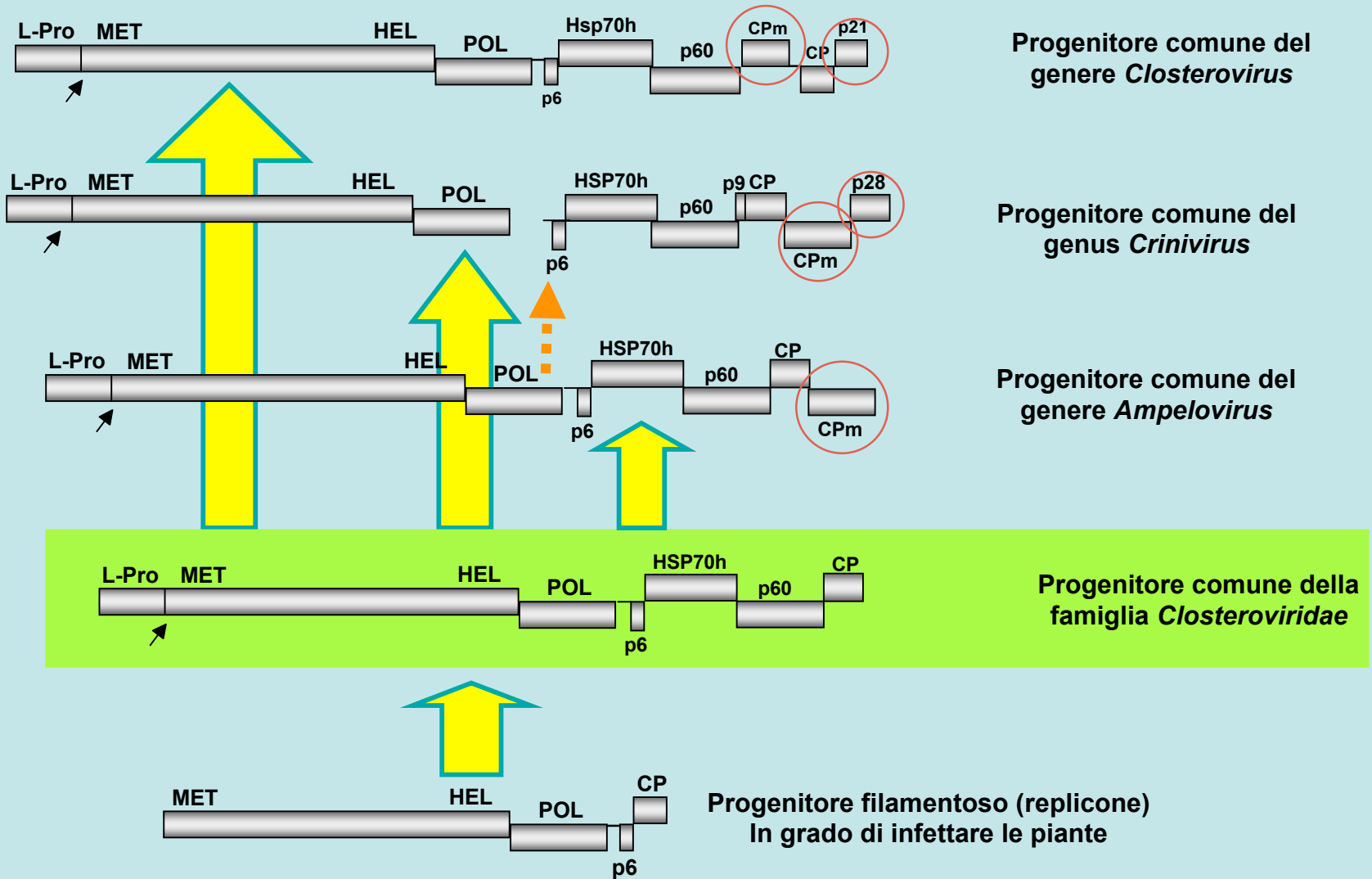


Il replicone ha acquisito la possibilità di movimento all'interno dell'ospite e si è messo al riparo da possibili danni dovuti a metilazione

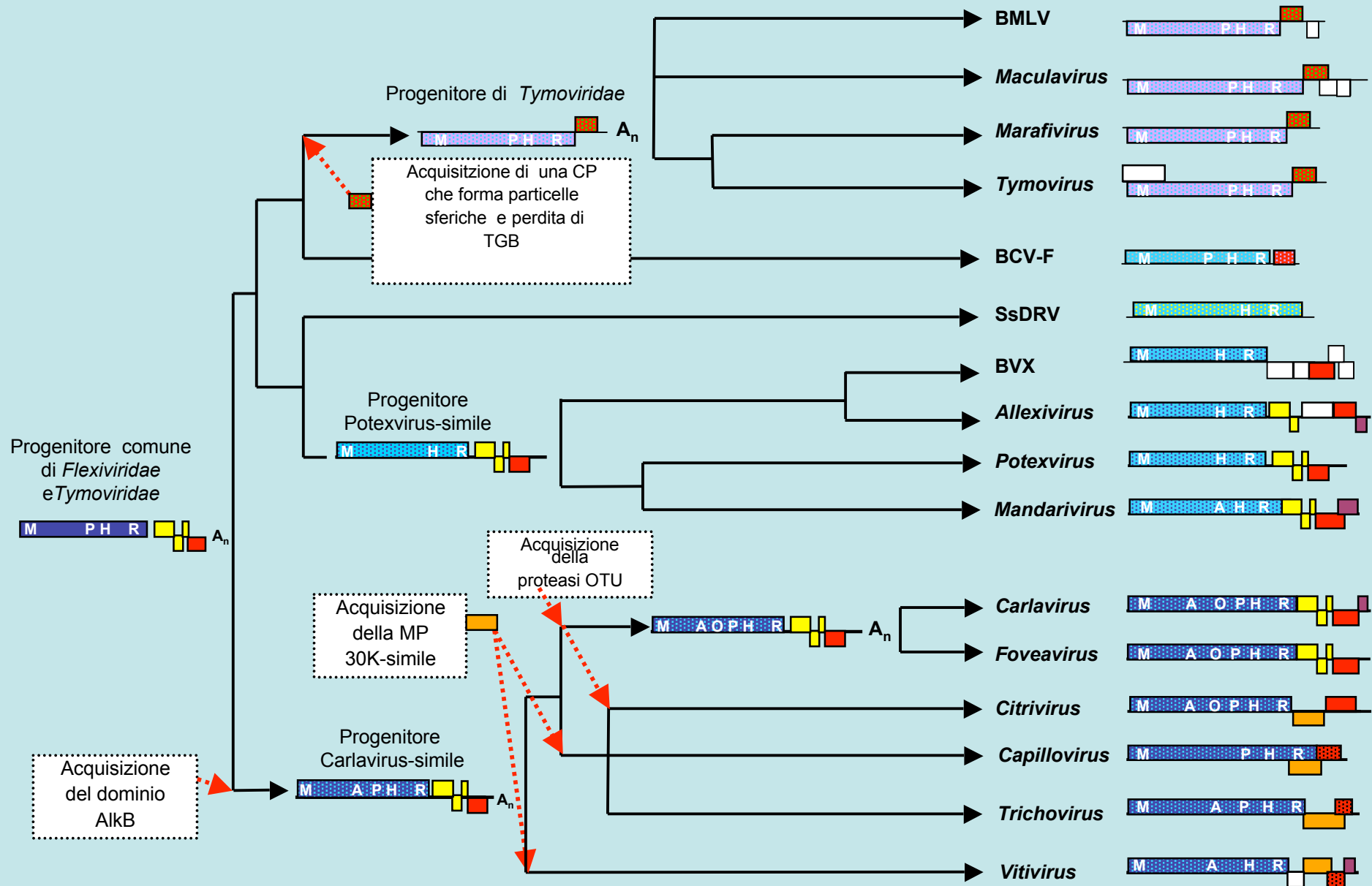
EVOLUZIONE MODULARE

L'evoluzione modulare consiste in una serie successiva di modificazioni che interessano un dato genoma virale quali, ad esempio, la duplicazione di geni, la perdita di sequenze per delezione, l'acquisizione di sequenze da fonti estranee (altri virus, ospite vegetale, altri organismi), la bipartizione, tripartizione o multipartizione del genoma

PROCESSO EVOLUTIVO DELLA FAMIGLIA *CLOSTEROVIRIDAE*



PROCESSO EVOLUTIVO DELLE FAMIGLIE *FLEXIVIRIDAE*/*TYMOVIRIDAE* PARTENDO DA UN PROGENITORE COMUNE

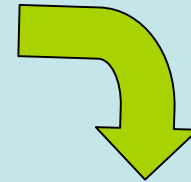
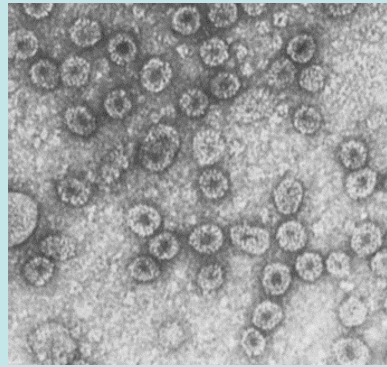
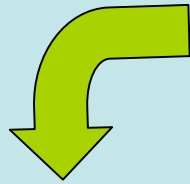


Lo scambio di materiale genetico tra ospiti e virus è bidirezionale. Sequenze endogene di virus ad DNA della famiglia *Caulimoviridae* (pararetrovirus) e *Geminiviridae* sono state individuate nel genoma di piante superiori (banana, petunia, tabacchi, pomodoro, orzo, agrumi, vite), quale risultato della co-evoluzione ospite-patogeno.

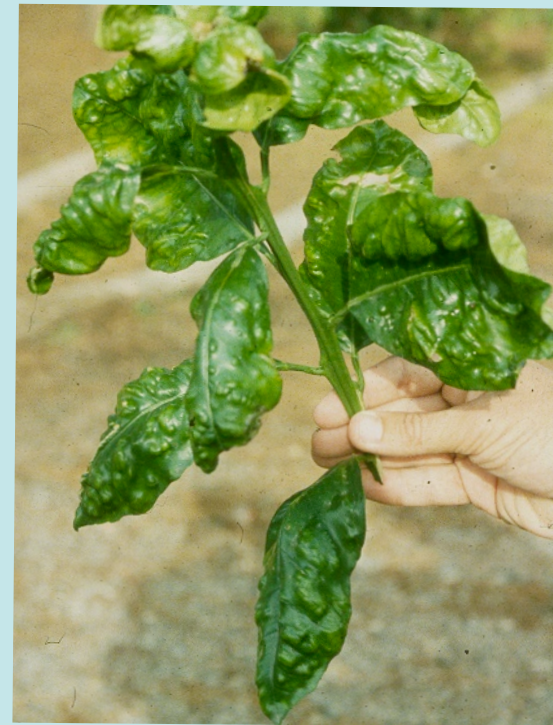
E' prevedibile che altri esempi del genere emergeranno con l'aumentare del numero di specie vegetali con genoma sequenziato

**EFFETTI DELLA BIODIVERSITA' DEI FITOVIRUS
SUGLI OSPITI**

Virus della variegatura infettiva degli agrumi

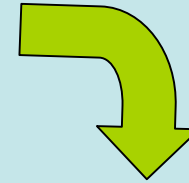
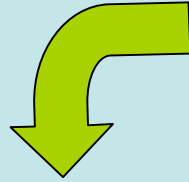
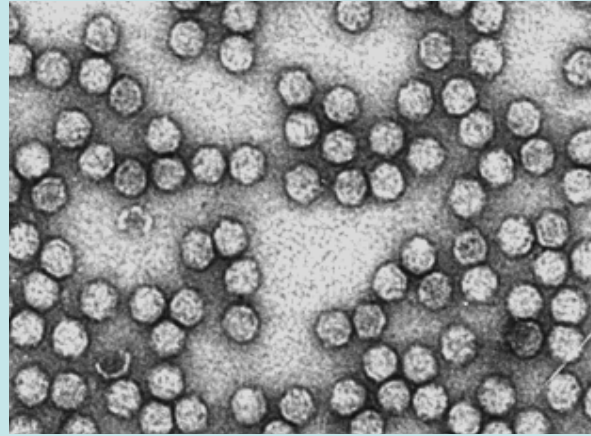


Variegatura infettiva



Foglia bollosa

VIRUS DELL'ARRICCIAMENTO DELLA VITE

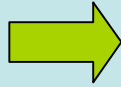


Arricciamento

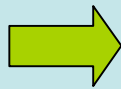


Mosaico giallo

Accartocciamento fogliare della vite (9 virus)



Varietà uva bianca



Varietà uva nera

Virus della tristezza degli agrumi



Ceppo attenuato

Ceppo aggressivo



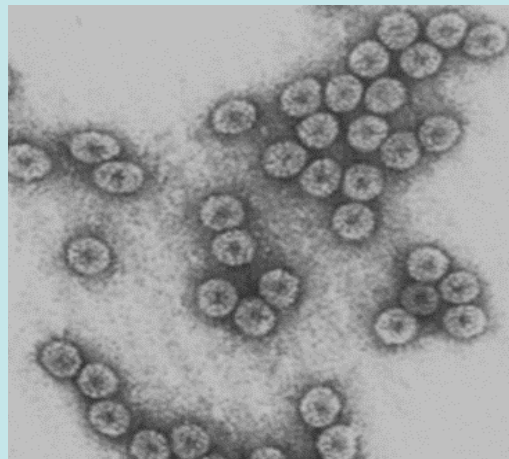
Virus del mosaico del cetriolo su pomodoro



Nanismo apicale



Filimorfismo

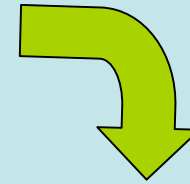
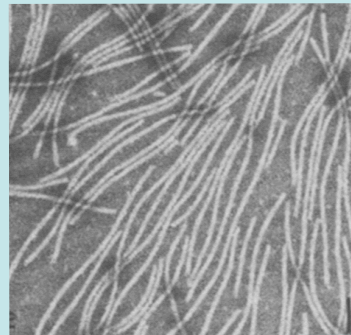
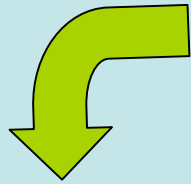


Foglia di Felce



Necrosi

Virus del mosaico giallo dello zucchino

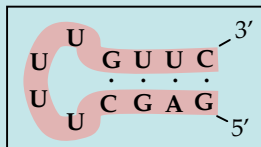
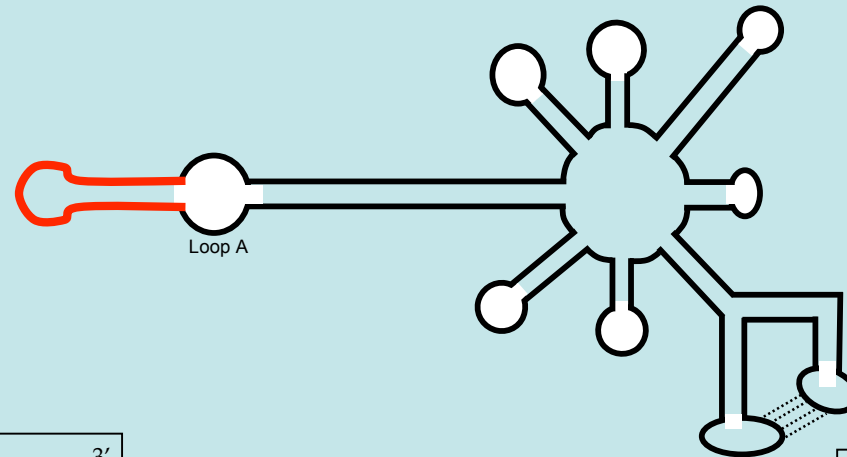


Ceppo virale
aggressivo

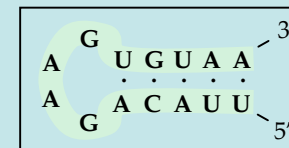


Ceppo virale
attenuato

Viroide del mosaico latente del pesco



Ceppo aggressivo



Ceppo attenuato

Effetto della biodiversità sulla trasmissione con vettori



Closterovirus →



Afidi

Ampelovirus →



Cocciniglie

Crinivirus →



Mosche bianche

GRAZIE PER L'ATTENZIONE