

ROSTLINNÉ VIRY

reálná nebezpečí i biotechnologický potenciál rozvoje

- \\ Virové infekce rostlin působí každoročně ztráty ve výši 600 miliard korun.
- \\ Tyto infekce poškozují všechny orgány rostliny, jsou příčinou menší velikosti a horší kvality plodů a mohou způsobit, že celá rostlina odumře.
- \\ Viry mají na svědomí katastrofální škody v zelinářství, u ovocných stromů, chmele, brambor a dalších vegetativně množených plodin.
- \\ Kvůli epidemiím infekcí mohou farmáři některé plodiny úplně přestat pěstovat.
- \\ Nejškodlivějším a nejrozšířenějším virem peckovin v Evropě je virus šarky švestek.
- \\ Virová svinutka bramboru může redukovat výnos až o 90 %.
- \\ Virus zakrslosti pšenice vedl na Moravě v roce 2002 až k zaorávkám celých porostů.
- \\ Rizománií cukrové řepy, která snižuje cukernatost a výnos o 50-90 %, je v ČR napadeno 1500 ha.

Virové choroby a viroidy působí na celém světě každoročně ztráty na kvalitě a výnosu zemědělské produkce ve výši více než 600 miliard korun. U některých plodin jsou tyto ztráty až katastrofální. Hlavní příčinou vzniku epidemií je mezinárodní obchod, protože plodiny, osiva i sadba se ve velkých objemech transportují napříč i mezi kontinenty. Šíří se tak nové viry a viroidy, agresivnější varianty známých virů i jejich hmyzí přenašeči, kteří se adaptují v nových oblastech v důsledku klimatické změny.

Tento AVex informuje o vzniku virových a viroidových epidemií u rostlin a o možnostech, jak rostliny léčit či onemocněním předcházet. Vysvětluje také vliv klimatické změny a nastiňuje biotechnologický potenciál rostlinných virů, například pro použití v medicíně, průmyslu nebo výzkumu.

Každá plodina má sadu několika ekonomicky významných virů. Například na řepce a brukvovitých zeleninách bylo doposud zjištěno 12 virů, mezi ekonomicky nejvýznamnější patří tři (virus žloutenky vodnice, virus mozaiky vodnice a virus mozaiky květáku). S nastávající klimatickou změnou se dá očekávat rozšíření dalších virů a viroidů ze subtropů do oblastí mírného pásma, kde najdou široký okruh hostitelů a mohou způsobit velké ztráty. Například v roce 2015 došlo k devastaci chmelnic ve Slovinsku viroidem CBCVd, pocházejícím z citrusů. Pěstování některých plodin pak přestane být pro farmáře rentabilní.

VIROIDY

Viroidy jsou nejmenší známí původci infekčních chorob rostlin. Tvoří je RNA, nemají žádný obal a dosahují pouze desetiny velikosti nejmenší virové RNA.

Biologové viroidy objevili až v roce 1971, do té doby se za původce většiny viroidních chorob rostlin považovaly viry. Viroidy způsobují asi 40 různých nemocí rostlin, například bledost plodů okurek, vřetenovitost hlíz bramboru nebo vráscitou kůru citronu.

ROSTLINNÉ VIRY NEBOLI FYTOVIRY

Fytoviry jsou viry, které napadají rostliny a způsobují jejich onemocnění, např. zpomalení růstu, svjívání listů, barevné změny na listech či plodech, případně odumírání části nebo celé rostliny.

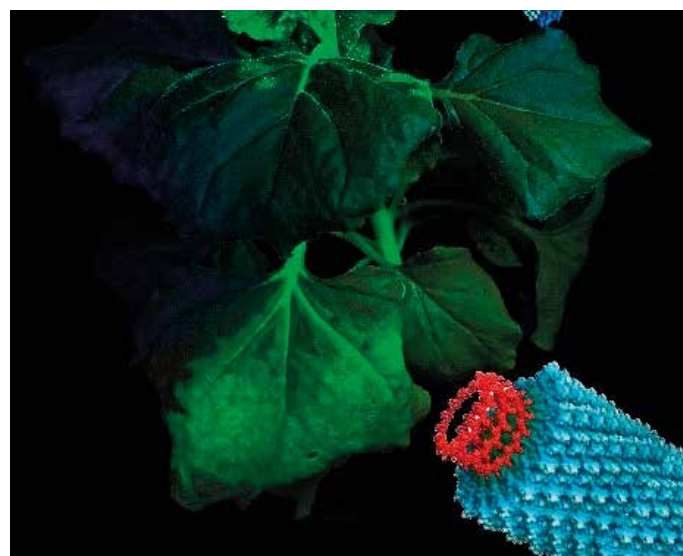
Buněčnou stěnu rostlinných buněk překonávají fytoviry pomocí tzv. vektorů neboli přenašečů. Takovým vektorem může být například hmyz nebo houba. Virus se do buňky může dostat také mechanickým poškozením.

Jak vznikají virové a viroidní epidemie?

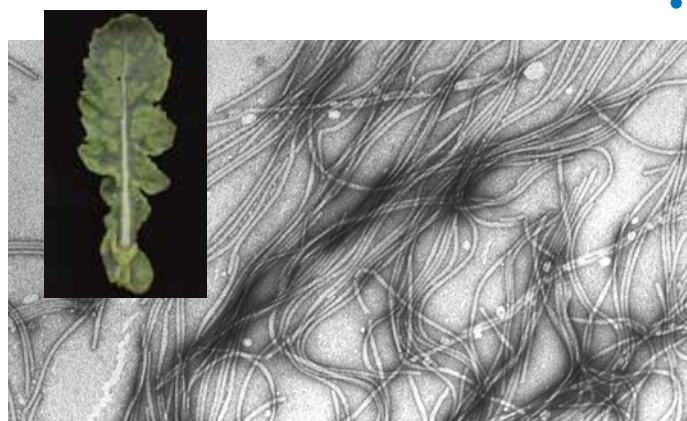
Viry a viroidy se mohou šířit kontaminovanou rostlinnou šťávou, doteky rostlin, pylem, semeny, částmi rostlin (oddenky, hlízy, rouby) i půdou. Účinnými přenašeči jsou roztoči, mnohé druhy hmyzu (mšice, křísi, molice a brouci), půdní háďátka a fytopatogenní houby, které jsou současně škůdci rostlin a mohou šířit viry i na velké vzdálenosti.

K šíření virů a viroidů v současnosti nejvíce přispívá mezinárodní obchod s rostlinnými komoditami. Obiloviny, ovoce, zelenina, okrasné dřeviny a rostliny, osiva a sadba se ve velkých objemech transportují loděmi, letadly i po zemi na velké vzdálenosti, napříč kontinenty i mezi nimi. Spolu s tímto zbožím se šíří také nové viry a viroidy, agresivnější kmeny známých virů i jejich přenašeči. Ti se navíc adaptují v severnějších oblastech v důsledku klimatické změny. Příčinou epidemií může být i prolomení odolnosti plodin nebo pěstování menšího počtu výkonnějších odrůd v nových oblastech. Viry a viroidy mohou být zavlečeny i s rostlinami, které si turisté přivezou z exotické dovolené.

Nejhorším možným scénářem epidemie je infekce viru s širokým hostitelským okruhem (ten může zahrnovat až 70 čeledí rostlin), šířená přenašečem (vektorem) s velkou rychlostí množení, který se může živit na velkém počtu hostitelských rostlin a současně virus nebo viry přenáší s vysokou účinností. K přenosu často stačí i několik desítek sekund sání, při němž hmyz ochutnává rostlinu.



Rostlina australského tabáku *Nicotiana benthamiana* je tažným koněm při použití virových vektorů pro výrobu vakcín a protilátek. Na obrázku je rostlina infikovaná virem tabákové mozaiky (TMV, vpravo dole) který má ve své genetické informaci vložený gen pro zelený fluorescenční protein (světle zelené oblasti na listech). Tento virus se také používá pro výrobu protilátek v rostlinných buňkách. Zdroj: Tomáš Moravec, ÚEB AV ČR.

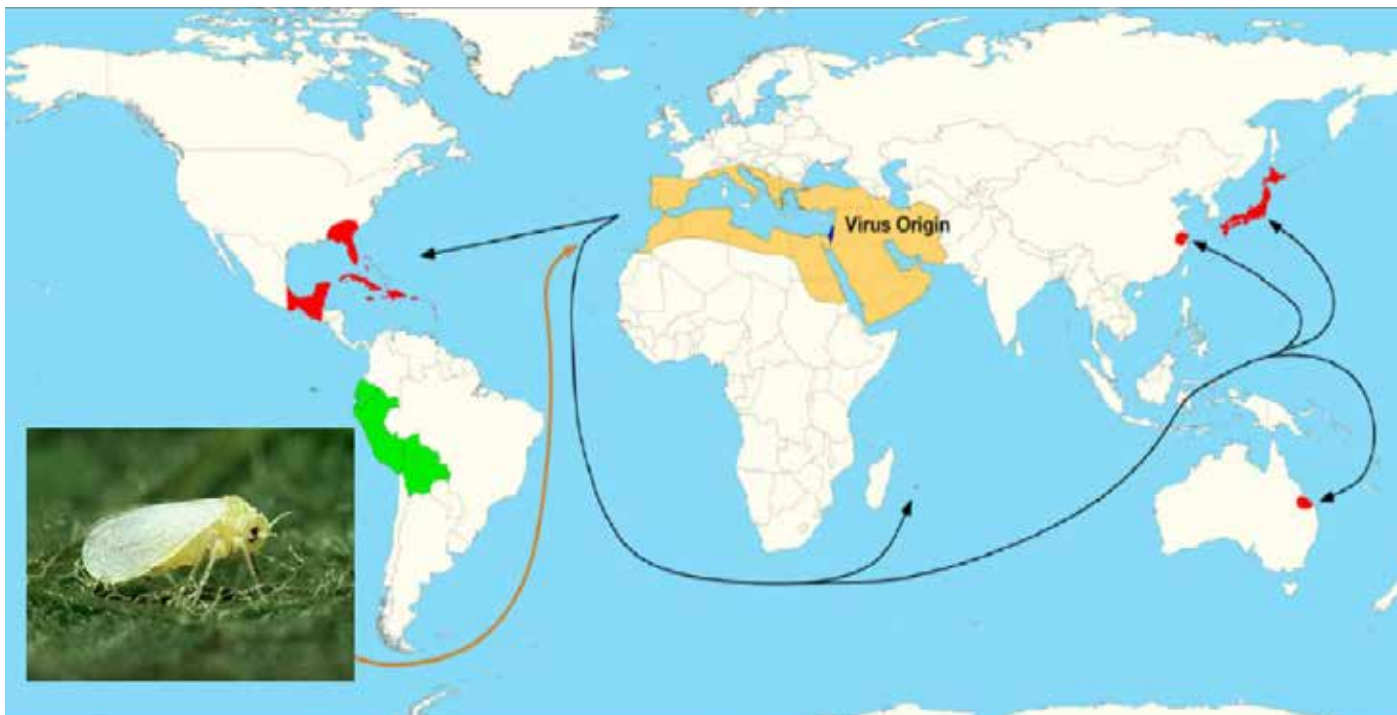


Vláknité částice viru mozaiky vodnice a příznaky infekce na řepce. Foto: J. Špáček

Původci onemocnění a jejich diagnóza

Počátek rostlinné virologie zahájila otázka, jak odhalit původce onemocnění tabáku, které devastovalo pole holandských pěstitelů na konci 19. století. Až do doby prvního elektronového mikroskopu v roce 1945 ale nebylo možné virové částice o velikosti desítek až stovek nanometrů (miliardtin metru) přímo pozorovat.

Teprve poté začal dramatický rozvoj diagnostiky fytovirů spojený s izolačními technikami či přípravou protilátek. V 70. letech minulého století se přidala i diagnostika viroidů a rutinní testování sadby a osiv. Molekulárněbiologické metody, zejména PCR, dokážou od 90. let minulého století zjistit přímo nukleové kyseliny virů a viroidů a detekovat s řádově vyšší citlivostí viry v přenašečích. Paralelní sekvenování virových genomů – tedy „čtení“ jejich kompletní dědičné informace – v současnosti zcela mění pohled na interakci všech virů s rostlinou.



Šíření viru kadeřavosti rajčete. Zelená barva označuje území domestikace rajčete v Jižní Americe. Hnědá barva znázorňuje regionální šíření viru molicí *Bemisia* z místa jeho původu v Izraeli do dalších zemí v Eurasii a severní Africe do roku 1980, červená šíření viru přes oceány do roku 2006, spolu se sazenicemi, plody rajčete a molicí. Zdroj: Biolob.cz, Jones R. A. C. 2009.

Jak lze bránit epidemiím

Prevence je vždy lepší než léčba. Včasně zjištění a určení původce onemocnění je základem všech ochranných opatření. Viry a viroidy nerespikují hranice států. Soustavnou kontrolou zdravotního stavu rostlinného materiálu na vstupních místech do ČR/EU lze bránit jejich zavlečení. A to i zákazem dovozu vyjmenovaných druhů plodin z konkrétních zemí a kontinentů.

Když virus nebo viroid pronikne na určité území a rozšíří se na něm – tak jak jsme toho byli svědky v souvislosti s pandemií lidského viru SARS-CoV-2 –, je na místě vyhlášení ochranných rostlinolékařských opatření, včetně karanténních zón, zákazu převozu rostlin i likvidace napadených kultur. Pěstitelům pak může být podle zákona č. 369/2019 Sb. přiznána finanční kompenzace, případně lze pěstování plodiny zakázat.

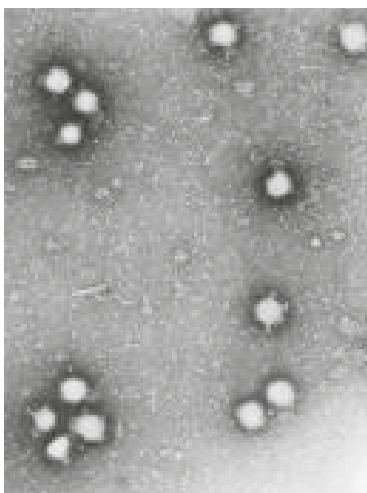
Legislativa České republiky je od roku 2004 harmonizována s EU, včetně seznamu druhů virů a viroidů, jejichž zavlečení a rozšiřování je zakázáno. Standardizováno je i testování osiv a sadby na přítomnost ekonomicky významných virů podle Evropské a středozemní organizace pro ochranu rostlin (EPPO). ●

Ochranná opatření v praxi

Boj s rostlinnými viry a viroidy ve farmářské praxi je založen na použití zdravé sadby a osiv. Tento postup je zvláště významný při zakládání trvalých kultur, například chmelnic, ovocných sadů nebo vinic, u nichž náklady dosahují 1 milionu Kč na hektar.

Povinná registrace množitelů sadby a osiv podle zákona č. 219/2003 Sb. umožňuje, aby Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (ÚKZÚZ) provedl kontrolu zdravotního stavu rostlin a vystavil rostlinolékařský pas. S ním je možné transportovat sadbu a osiva v rámci Evropské unie. ÚKZÚZ tedy v ochraně rostlin plní obdobné úkoly jako Státní veterinární správa či Státní zdravotní ústav v oblasti prevence veterinárních nebo lidských nálezů.

Dalším stupněm obrany je odstranění napadených rostlin. Při plošném rozšíření viru nebo viroidu jsou účinné zásahy proti přenašečům (vektorům) a pěstování odolných odrůd. Cílené šlechtění odolných odrůd je proces, který trvá řadu let. Uplatňují se při něm klasické křížení i nejnovější molekulárněbiologické metody, biotechnologie nebo cílená genetická úprava metodou CRISPR-cas9, které proces šlechtění značně urychlují. ●

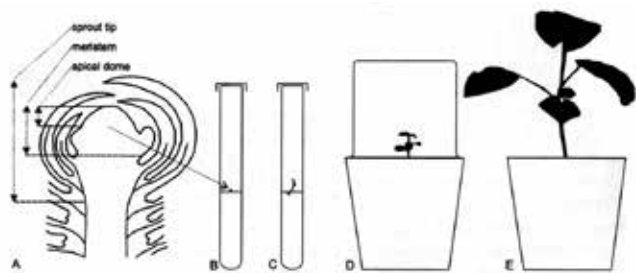


Virus bronzovitosti rajčete (obr. 1), přenášený třásněnkou *Frankliniella occidentalis* (obr. 2), vyvolává poškození plodů rajčete (obr. 3) a epidemické škody ve výši 1 miliardy USD ročně. Zdroj EPPO, Google

Můžeme napadené rostliny vyléčit?

Známe stovky účinných protivirových látek. Antivirotika pomáhají, ale nejsou řešením. Jejich plošná aplikace, podobná, jakou známe u pesticidů a fungicidů, není možná, protože představuje rizika pro zdraví lidí, zvířat a životní prostředí. Účinná koncentrace antivirotik často vyvolá i poškození rostlin. Vysoké jsou i náklady na koupi těchto přípravků a jejich aplikaci.

Proto se antivirotika, nejčastěji Ribavirin, prakticky používají jen při souběžném ozdravení a vegetativním množení plodin biotechnologickými postupy, v kombinaci s termo- a kryoterapií, tedy léčbou rostlin vysokou či nízkou teplotou. Tyto technologie se uplatňují například u brambor, chmele, cibulovin, velkého a drobného ovoce, květin a okrasných dřevin. Po ozdravení je pak možné získat rostliny i zcela bez virů a viroidů.



Postup ozdravení rostlin bramboru pomocí tzv. meristémové kultury. Prvním krokem je termoterapie – infikovaná rostlina se vystaví vysokým teplotám, které zpomalují množení viru. Pak se z ní izoluje stonkový vrchol (A) a přenese se na sterilní živné médium obsahující antivirotikum Ribavirin (B). Z vrcholu postupně regeneruje celá rostlina (C). Tu lze přesadit do půdy a vhodnými testy zkontrolovat, zda byla skutečně zbavena viru (D). Z bezvirózní rostliny je pak možné namnožit zdravou sadbu (E). Zdroj: Salazar 1966.

Přínos ústavů AV ČR v boji s rostlinnými viry a viroidy

Studium rostlinných virů a dalších organismů způsobujících choroby rostlin má v Akademii věd ČR tradici od 60. let minulého století. Vědci Ústavu experimentální botaniky AV ČR a Ústavu molekulární biologie rostlin Biologického centra AV ČR spolupracují také s plodinovými ústavu – Chmelařským institutem s.r.o. v Žatci, Výzkumným ústavem bramborařským s.r.o. v Havlíčkově Brodě a Výzkumným a šlechtitelským ústavem ovocnářským s.r.o. v Holovousích – na výzkumných projektech, zavádění nových diagnostických postupů a identifikaci patogenů v praxi.

ZÁVĚRY

Boj s rostlinnými viry a viroidy může být úspěšný pouze při systematické a dlouhodobé spolupráci všech zúčastněných – producentů sadby a osiv, orgánů státní správy (ÚKZÚZ), farmářů a občanů. Preventivní protiepidemická opatření vyžadují soustavný výzkum, sledování výskytu a rozšíření viroidů, virů a jejich přenašečů, vývoj diagnostiky a zavádění a dodržování ochranných opatření podle mezinárodních fytoosanitárních standardů včetně kontroly transportu rostlin do EU i uvnitř EU. Nutná je aktivní účast odborníků z ČR ve všech těchto oblastech.

Základem ochrany proti virovým epidemiím jsou osivo a sadba ozdravené biotechnologickými postupy, včasná detekce a identifikace virů a viroidů sérologickými a molekulárněbiologickými testy, eliminace napadených rostlin a likvidace hmyzích přenašečů virů. Cenným zdrojem rezistence pro šlechtění odrůd odolných k virům, viroidům i jejich přenašečům jsou staré odrůdy uchovávané v jejich sbírkách (genových bankách) a příbuzné plané rostliny v přírodě, jejichž využití je v současnosti komplikováno mezinárodními smlouvami např. Nagojským protokolem. Molekulárněbiologické metody zrychlují šlechtění odolných plodin a podporují získávání nových typů odolnosti k virům u biotechnologických a geneticky modifikovaných plodin.

Využití rostlinných virů v biotechnologiích

Rostlinné viry nejsou jen škůdci a nepřáteli. Díky svým unikátním vlastnostem a našim zlepšujícím se znalostem o nich nalézají rostlinné viry nebo jejich součásti stále širší uplatnění i v mnoha praktických oborech od základního výzkumu přes zemědělství až k biotechnologiím.

Již od počátků rostlinných biotechnologií byly rostlinné viry, respektive jejich fragmenty, velmi důležitými pomocníky. Bez jednoho z nich – viru mozaiky kvěťáku – si dokonce nelze moderní biotechnologie ani představit. Jeho virový promotor (regulační oblast genu) byl totiž přibližně před 40 lety poprvé použit pro genetickou úpravu rostlin a i dnes obsahuje většina komerčních geneticky modifikovaných plodin tento promotor.

Pozměněné rostlinné viry (tzv. virové vektory) mohou najít využití při výrobě protilátek nebo vakcín proti lidským virům, tak jako v případě monoklonální protilátky proti Ebolě známé jako zMapp nebo jedné z vakcín proti sezónní chřipce. V současnosti společnost Medicago provádí třetí fázi klinických testů s rostlinnou vakcínou proti viru SARS-CoV-2.

Rostlinný virus může být užitečným nástrojem i v opačné roli. Upravené viry lze aplikovat ve formě postřiku pro oddálení nebo naopak urychlení kvetení. Mohou také ochránit rostlinu před škůdci nebo chorobami tím, že ovlivní aktivitu genů přímo ve škůdci.

Mezi poměrně nové oblasti uplatnění rostlinných virů patří jejich použití pro tzv. editaci rostlinné DNA pomocí systému CRISPR/Cas9. Cas9 jsou velmi přesné a programovatelné genové nůžky, které dokážou přestříhnout nebo jinak modifikovat molekulu DNA v konkrétní pozici, třeba na jednom jediném místě rozsáhlé genetické informace. Vědcům pak stačí jen jedna rostlina s trvale pozměněnou DNA, jejíž potomstvo lze poměrně snadno přeprogramovat a už na věky si nese cíleně editovaný gen. V krátkém čase tak lze editovat velké množství rostlinných genů.

Mezi neméně slibné oblasti použití rostlinných virů patří nanotechnologie. Rostlinné viry mají většinou velmi pevný a chemicky odolný proteinový obal, který je možné geneticky a chemicky upravovat. Takto modifikované virové částice jsou pak základem mnoha slibných materiálů s unikátními biologickými a fyzikálními vlastnostmi, které by mohly nalézt uplatnění v medicíně nebo elektronice.



AVEX 2 | 2021: ROSTLINNÉ VIRY A VIROIDY: REÁLNÁ NEBEZPEČÍ I BIOTECHNOLOGICKÝ POTENCIÁL ROZVOJE, ČERVEN 2021

Přehled použité literatury: <http://www.avcr.cz/cs/veda-a-vyzkum/avex/>

AVex je nezávislé a nestranné expertní stanovisko, které Akademie věd České republiky připravuje pro legislativní potřeby zákonodárců Poslanecké sněmovny a Senátu Parlamentu České republiky.

Připravila Akademie věd ČR, odborným garantem je Biologické centrum AV ČR a Ústav experimentální botaniky AV ČR.

Odpovědná redaktorka: Markéta Růžičková, e-mail: avex@kav.cas.cz, <http://www.avcr.cz/cs/veda-a-vyzkum/avex/>

Kontaktní osoby: Josef Špak, Ústav molekulární biologie rostlin, Biologické centrum AV ČR, e-mail: spak@umbr.cas.cz,

Tomáš Moravec, Ústav experimentální botaniky AV ČR, e-mail: moravec@ueb.cas.cz

Literatura – AVex 2/2021

1. EPPO Standards on phytosanitary measures
https://www.eppo.int/RESOURCES/eppo_standards
2. Pečinka A. et al. 2019. Genetické modifikace plodin
<https://www.avcr.cz/export/sites/avcr.cz/cs/veda-a-vyzkum/avex/files/04-2019-GMO.pdf>
3. Ryšánek P., Konečný I. 2000. Rizómánie cukrové řepy. <http://www.agris.cz/clanek/83582>
4. Sastry K., Zitter T. 2014. Plant Virus and Viroid Diseases in the Tropics [10.1007/978-94-007-7820-7_2](https://doi.org/10.1007/978-94-007-7820-7_2)
5. Schlesingerová G. 2011. Virus šarky švestky <http://eagri.cz/public/web/file/141183/PPV.pdf>
6. Slavíková L. et al. 2020. Virové choroby řepky, jejich výskyt, přenos, přirozené rezervoáry a ochrana <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/choroby/virove-choroby-repy-jejich-vyskyt-prenos-prirozene-rezervoary-a-ochrana>
7. Špak J. et al. 2018. Diagnostika rostlinných patogenů metodou nové generace sekvenování. Rostlinolékař 29(2), 15-17.
8. Špak J. et al. 2020. Testování jabloní na přítomnost virů metodou nové generace sekvenování Zahradnictví 8: 35-37.
9. Zákon č. 219/2003 Sb., o uvádění do oběhu osiva a sadby pěstovaných rostlin
<http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/legislativa/legislativa-cr/osivo-a-sadba/>
10. Zákon č. 369/2019 Sb. o rostlinolékařské péči
<http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/skodlive-organismy/legislativa/legislativa-cr/>