

SVEU ILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATI KI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

PATOGENE BAKTERIJE S IZNIMNO REDUCIRANIM
GENOMIMA

PATHOGENIC BACTERIA WITH HIGHLY REDUCED
GENOMES

SEMINARSKI RAD

Ivan Mateljak

Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: prof. dr. sc. Dijana Škori

Zagreb, 2011

SADRŽAJ

1. UVOD	2
2. RAZNOLIKOST I KLASIFIKACIJA FITOPLAZMI	3
2.1. Molekularna identifikacija	4
3. ŽIVOTNI CIKLUS – BILJKE I KUKCI KAO DOMA INI	5
3.1 Utjecaj fitoplazmi na vektore	6
3.2 Utjecaj fitoplazmi na biljke – simptomi	7
4. MINIMALNI GENOM FITOPLAZMI	8
4.1. Nedostatak ATP-sintaze	9
4.2. Unos šećera u fitoplazme	10
4.3. Ponavljajuće sekvence u genomima fitoplazmi	10
5. ZAKLJUČAK	12
6. LITERATURA	13
7. SAŽETAK	14
8. SUMMARY	15

1. UVOD

Fitoplazme su specijalizirane bakterije koje uzrokuju brojne biljne bolesti diljem svijeta. Obligatni su intracelularni paraziti biljnog floemskog tkiva i kukaca (vektori) kojima se i prenose u prirodi što zna i da njihov životni ciklus uključuje replikaciju i u kukcima i u biljkama. Fitoplazme nemaju stanišnu stijenku, pleomorfne su, stoga pripadaju razredu *Mollicutes* zajedno s mikoplazmama, spiroplazmama, ureaplazmama, i aholeplazmama. Promjer im je oko 500 nm, imaju izrazito reducirane genome (680 – 1600 kb) i kao možda najvažniju praktičnu značajku treba navesti da se fitoplazme ne mogu kultivirati na hranjivim podlogama što je znanstvenicima predstavljalo najveći i problem u istraživanju ovih organizama.

Otkrivene su 1967. godine i zbog sličnosti s mikoplazmama u to vrijeme su nazvane MLOs (Mycoplasma Like Organisms). Identifikacija ovih patogena 20 godina se zasnivala na mikroskopskim opservacijama, međutim zadnjih dvadesetak godina primjenom različitih metoda molekularne biologije i molekularne filogenije se uspjelo utvrditi da su fitoplazme zaseban rod, evolucijski mnogo bliže aholeplazmama nego spiroplazmama ili mikoplazmama. Godine 1994., na desetom kongresu međunarodne organizacije mikoplazmologije ime fitoplazma je prihvaćeno kao službeni naziv ove monofiletske skupine unutar razreda *Mollicutes*. Danas su fitoplazme svrstane u rod '*Candidatus (Ca.) Phytoplasma*'. Oznaka *Candidatus* znači da se ovi organizmi ne mogu kultivirati na umjetnim hranjivim podlogama[1].

Zanimanje znanstvenika za fitoplazme posljednjih godina je dosta veliko iz razloga što je ova grupa bakterijskih fitopatogena ekonomski jako važna. Kao što je već prije rečeno, fitoplazme uzrokuju biljne bolesti širom svijeta. Poznato je više od 700 biljnih vrsta u kojih su fitoplazme izazvale bolesti, a ishod mnogih od njih su velike štete.

2. RAZNOLIKOST I KLASIFIKACIJA FITOPLAZMI

Zbog nemogu nosti uzgoja na umjetnim hranjivim podlogama, fitoplazme su bile slabo karakterizirane sve do uvo enja analize 16S ribosomske RNA kao standarda za klasifikaciju bakterija. Metode koje se naj eš e koriste pri tim analizama su PCR (Polymerase Chain Reaction tj. lan ana reakcija polimerazom) i RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism tj. polimorfizam duljine restrikcijskih fragmenata). Fitoplazme je nemogu e razlikovati i klasificirati prema biljnim domaćinima, simptomima i prema vektorima koji ih prenose iz razloga što jedna fitoplazmatska vrsta može zaraziti jako velik broj biljnih vrsta diljem svijeta, fitoplazme esto prenose sli ni kukci i izazivaju sli ne simptome na biljkama koje zaraze. Tako da je jedini način za razlikovanje ovih patogena molekularna identifikacija, odnosno analiza gena za 16S rRNA. Prema toj analizi, rod '*Candidatus Phytoplasma*' sadrži otprilike 30 skupina ovih organizama koje su na razini vrste. Nova vrsta '*Candidatus Phytoplasma*' može biti prihva ena ako njena sekvenca 16S rDNA (duža od 1200 bp) ima manje od 97.5% identiteta s bilo kojom prije opisanom '*Candidatus Phytoplasma*' vrstom. Uz to, dvije fitoplazme koje dijele više od 97.5% sli nosti mogu biti različite vrste ako ispunjavaju ova tri kriterija [2]:

- 1) ako se prenose različitim kukcima-vektorima
- 2) ako imaju različite prirodne biljne domaćine
- 3) ako postoji dokaz za molekularnu različitost između te dvije fitoplazme, obično u bitnim genomskim regijama izvan gena za 16S rRNA.

Tablica 1. Važnije fitoplazmatske skupine i vrste na temelju analize gena za 16S rRNA (prema[2]):

Ribosomska skupina	Deskriptivno ime	Fitoplazmatska vrsta ('Candidatus Phytoplasma')
16SrI	Aster yellows	<i>Ca. P. asteris</i> <i>Ca. P. japonicum</i>
16SrII	Peanut witch's broom	<i>Ca. P. aurantifolia</i>
16SrIII	Peach X-disease	<i>Ca. P. pruni*</i>
16SrIV	Coconut lethal yellowing	<i>Ca. P. palmae*</i> <i>Ca. P. castaneae</i>
16SrV	Elm yellows	<i>Ca. P. ziziphi</i> <i>Ca. P. vitis*</i>
16SrVI	Clover proliferation	<i>Ca. P. trifolii</i>
16SrVII	Ash yellows	<i>Ca. P. fraxini</i>
16SrVIII	Loofah witch's broom	<i>Ca. P. loofae*</i>
16SrIX	Pidgeon pea witch's broom	<i>Ca. P. phoenicium</i>
16SrX	Apple proliferation Pear decline European stone fruit yellows	<i>Ca. P. mali</i> <i>Ca. P. pyri</i> <i>Ca. P. prunorum</i> <i>Ca. P. spartii</i>
16SrXI	Rice yellow dwarf	<i>Ca. P. oryzae</i>
16SrXII	Stolbur	<i>Ca. P. solani*</i> <i>Ca. P. australiense</i>
16SrXIII	Mexican periwinkle virescence	Nepoznato
16SrXIV	Bermudagrass white leaf	<i>Ca. P. cynodontis</i>
16SrXV	Hibiscus witch's broom	<i>Ca. P. brasiliense</i>

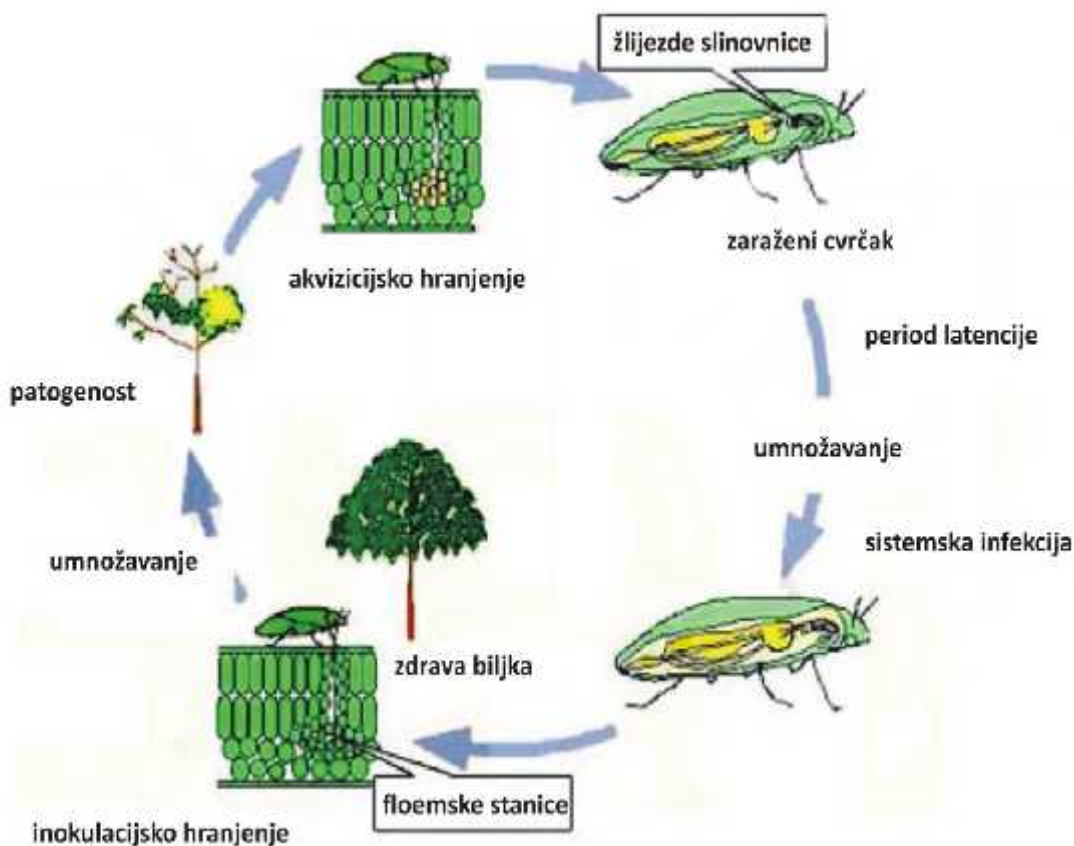
* Imena koja još nisu službeno usvojena jer nema formalnog opisa fitoplazme.

2.1. Molekularna identifikacija

Fitoplazmatski kromosom je vrlo malen (680 - 1600 kb) i filogenetska istraživanja su predložila vrstu *Acholeplasma laidlawii* kao zajedničkog pretka fitoplazmi i aholeplazmi zbog zajedničkih obilježja, između ostalih i zbog toga što taj organizam ima isti kodon UGG koji kodira za triptofan (Trp) kao fitoplazme, dok je kod spiroplazmi i mikoplazmi triptofan kodiran s UGA. Sekvenciranje potpunih rRNA-gena za nekoliko fitoplazmatskih sojeva pokazalo je da se tRNA koja kodira za valin i asparagin nalazi nizvodno od gena 5S rRNA, što je jedinstvena karakteristika ovih prokariota [2].

3. ŽIVOTNI CIKLUS – BILJKE I KUKCI KAO DOMA INI

Fitoplazme i tri vrste spiroplazmi, koje su tako er biljni patogeni prenosivi kukcima, imaju jedinstvenu biologiju me u svim biljnim patogenim bakterijama. To možemo re i zato što se repliciraju unutar jako razli itih doma ina, biljaka (Carstvo Plantae) i kukaca (Carstvo Animalia) da bi preživjele i opstale u prirodi [1]. Kod biljnih organizama fitoplazme se uglavnom nalaze u elementima floema, uklju uju i i sitaste cijevi bez jezgri i nezrele floemske stanice koje sadrže jezgru. Glavna karakteristika kukaca koji prenose ove patogene je mogu nost da se hrane sokom iz floema. Nakon što se kukac zarazi, fitoplazme se moraju prihvatiti na membrane epitelnih stanica srednjeg crijeva, na ili izme u mikrovila, da bi inicirali rasprostranjivanje po srednjem crijevu. Zatim se mogu akumulirati u visokoj gusto i izvan bazalne lamine epitelnih stanica naj eš e u miši nim vlaknima, trahejama, hemocelu i hemocitima da bi na kraju ušle i u hemolimfu [1]. Hemolimfa je najvjerojatnije glavni put prijenosa ovih organizama u druga tkiva uklju uju i žlijezde slinovnice. Nakon što se kukac zarazi obi no se javlja period latencije. Tada kukac nije u mogu nosti dalje rasprostranjivati fitoplazme na zdrave biljne doma ine (Slika 1). Ovaj period može trajati nekoliko sati do nekoliko tjedana ovisno o kombinaciji vektora i patogena. Dakle, fitoplazme mogu biti intracelularne i ekstracelularne u tkivu kukaca, što zna i da su fitoplazme intracelularni paraziti biljaka, ali intracelularni i ekstracelularni patogeni kukaca.



Slika 1. Životni ciklus fitoplazmi

(prera eno s <http://papilio.ab.a.u-tokyo.ac.jp/planpath/phyto-genome/what.htm>).

3.1 Utjecaj fitoplazmi na vektore

Većina fitoplazmatskih vektora su članovi porodice *Cicadellidae*, među njima to je jedna od najvećih porodica kukaca s oko 25 000 vrsta. Još dvije porodice kukaca koje su značajne u prijenosu su *Fulgoroidea* i *Psyllidae*. Infekcija fitoplazmama može imati različite učinke u zavisnosti od vrste vektora. Odnos fitoplazma-insekt može biti pozitivan, negativan ili neutralan za kukca-domaćina. Neke vrste cikada nakon infekcije za nekoliko sati umiru, dok većina vektora ima neutralan odnos prema fitoplazmama. No postoje i vektori koji imaju koristi nakon infekcije tako da žive duže u nedostatku hrane ili pri sniženim temperaturama. Fitoplazme mogu takođe "manipulirati" biljkama tako da postanu domaćini kukcima koji se inače ne hrane na tim

biljkama. Dobar primjer za to je parazit kukuruza cvr ak *Dalbulus maidis* koji se može hraniti i preživljavati na fitoplazmom zaraženoj biljci zvjezdana ili zelene salate, ali ne i na zdravim biljkama tih vrsta. Tako ovi organizmi imaju nevjerojatan efekt na interakciju između kukaca i biljaka, ali mehanizam ili mehanizmi tih interakcija još su nepoznati [3].

3.2 Utjecaj fitoplazmi na biljke – simptomi

Fitoplazme uglavnom djeluju izrazito negativno na biljne domaćine. Njihova najveća koncentracija unutar domaćina je u zrelih sitastim cjevima. Biljke često ne mogu razviti normalne cvjetove, plodove i sjemenke. Kao i ostali biljni bakterijski patogeni, fitoplazme produciraju proteine (faktore virulencije) koji suprimiraju normalne obrambene reakcije biljke. Ti proteini utječu na nestajanje nutrijenata i faktora rasta. Prvi protein za koji se pouzdano zna da je faktor virulencije je SAP 11 [4]. Drugi faktor virulencije je protein Tengu [5]. Ova dva proteina su osim u floemu, nađena i u ostalim dijelovima biljke te pomažu u njih i drugih virulentnih proteina, fitoplazme kontroliraju fiziologiju cijele biljke. Uobičajeni simptom uzrokovan fitoplazmatskom infekcijom je filodija tj. stvaranje struktura poput listova na mjestima gdje bi trebali biti cvjetovi (Slika 2.). Prema istraživanjima provedenima na rajčici, fitoplazme imaju negativan utjecaj na gen koji formira laticu (AP3) i na gene koji su uključeni u formiranje i održavanje apikalnog meristema [6]. To uzrokuje pojavu lapova na mjestu latica. Fitoplazmom inficirane biljke mogu također imati simptome virescencije, odnosno razvoja zelenih cvjetova zbog gubitka pigmenta u laticama (Slika 3.). Mnoge inficirane biljke dobiju grmolik oblik ili oblik vještice metle. Većina biljaka pokazuje apikalnu dominaciju, no infekcija ovim patogenom može uzrokovati proliferaciju bočnih izdanaka kao i produženje internodija što je također povezano s regulatorima rasta. Ostali simptomi kao što je žućenje i crvenjenje listova povezani su s prisutnošću fitoplazmi u floemu. Događaju se i nekroza floemskog tkiva što utječe na promjenu transporta ugljikohidrata [1].



Slika 2. Filodija-abnormalno stvaranje listova

(preuzeto s <http://fr.academic.ru>).



Slika 3. Virescencija-ozelenjavanje dijelova cvijeta.

(preuzeto s <http://www.apsnet.org>).

4. MINIMALNI GENOM FITOPLAZMI

Do sada su u potpunosti sekvencirana etiri genoma fitoplazmi: 2 soja '*Ca. P. asteris*' - Onion Yellows (OY) i Aster Yellows Witches Broom (AY-WB), genom '*Ca. P. australiense*' i kao najmanji do sad genom '*Ca. P. mali*'. Prvi sekvencirani genom neke fitoplazme je '*Ca. P. asteris*' (OY) i sastoji se od jednog kromosoma s 860631 bp i dva manja izvankromosomska elementa EcoYM i pOYM koji su zapravo plazmidi. Svaki plazmid kodira protein za inicijaciju replikacije (Rep), kao i nekoliko nepoznatih proteina. Glavni kromosom je kružna molekula DNA sa samo 28% G+C. Genom tako er sadrži 754 otvorena okvira itanja (Open reading frames, ORFs) koji obuhva aju 73% kromosoma [7]. Genom fitoplazmi sadrži gene za osnovne stani ne funkcije kao što su DNA-replikacija, transkripcija, translacija i translokacija proteina. Kao i kod mikoplazmi, kromosomu fitoplazme nedostaje mnogo gena povezanih s biosintezom aminokiselina i masnih kiselina, ciklusom limunske kiseline i oksidativnom fosforilacijom. No za razliku od mikoplazmi, fitoplazme nemaju gene za sistem fosfotransferaze kao ni gene za pretvaranje UDP-galaktoze u glukozu-1-fosfat što zna i da imaju jedinstven proces unosa i metabolizma še era. Nedostaju im i geni za put pentoza-fosfata i ve ina gena za sintezu

nukleotida, a tako er nisu prona eni transporteri za nukleozide, nukleotide, NADP/NADPH, iako vjerojatno postoje [7]. Kao što znamo, fitoplazme žive u nutrijentima bogatom okolišu i apsorbiraju od doma ina one metabolite koji im nedostaju za normalan rast i replikaciju. Zbog toga možemo re i da su vjerojatno nastale redukcijском evolucijom, postupno gube i niz gena koji im više nisu bili potrebni tj. produkte tih gena mogli su apsorbirati od doma ina. Za apsorbiranje metabolita trebaju im transportni sistemi, a genom fitoplazme OY sadrži 27 gena koji kodiraju za takve membranske proteine, uklju uju i malatni transporter, metal-ionski i aminokiselinski, od kojih se neki nalaze u više kopija [7]. To sugerira da ovi patogeni agresivno unose mnogo metabolita od doma ina, što naravno uzrokuje poreme aj metabolizma doma ina što se ponekad o ituje kao simptom zaraze. Genom fitoplazme sadrži gene koji sudjeluju u sintezi folata, što možda omogu uje fitoplazmama da se adaptiraju na druge biljke i kukce kao potpuno drugi tip doma ina. Zanimljivo je i odsustvo proteina sli nog tubulinu (Ftsz) za kojeg se smatra da je esencijalan u diobi stanice [7]. Ovaj protein nedostaje i kod vrste *Ureaplasma urealyticum* [8]. Kako se ova dva organizma dijele bez citoskeletnih proteina ostaje izazov za budu a istraživanja.

4.1. Nedostatak ATP-sintaze

Najintrigantnije otkri e u analizi genoma fitoplazmi je nedostatak gena koji kodiraju za sve podjedinice ATP-sintaze koja se nalazi u svim dosad sekvenciranim bakterijama. Sve poznate bakterije koriste F₁F₀-tip ATP-sintaze u plazma-membranama da bi izazvale membranski potencijal i naravno sintetizirale stani ni ATP. *Chlamydia trachomatis* tako er nema ove gene, ali zato ima arhejski A₀A₁-tip ATP-sintaze i uz to posjeduje ATP/ADP-translokazu i na taj na in unosi ATP iz doma ina. Fitoplazme su prvi živi i organizmi kojima nedostaju svi ti geni. Na in na koji fitoplazme unose ATP iz doma ina je još uvijek nepoznat [7]. Sintaza ATP-a kod ovih patogena je vjerojatno jako ovisna glikoliznom putu. Nedavno je ustanovljeno da je regija u genomu od otprilike 30 kb koja uklju uje glikoliti ke gene uzastopno duplirana u genomima fitoplazmi koje uzrokuju ozbiljne simptome na doma inima [1]. To tako er može zna iti da glikoliti ki put igra važnu ulogu u životnom ciklusu fitoplazmi. Bez obzira što nedostaju geni za ATP-sintazu, postoji odre eni membranski potencijal. Fitoplazme imaju pet gena koji kodiraju za P-tip ATPaza koje su sli ne animalnim Na⁺/K⁺ i H⁺/K⁺-

pumpama. Te ATPaze stvaraju elektrokemijski gradijent preko membrane i možda su uključene u energijski sustav fitoplazmi [1].

4.2. Unos šećera u fitoplazme

Zbog toga što fitoplazme mijenjaju domaćina, dolazi do velike promjene u okruženju gdje parazitiraju. Nivo koncentracija šećera je na sličnoj visokoj razini i kod biljaka i kod kukaca. U hemolimfi vektora fitoplazmi koncentracija trehaloze je 0.9 M, a u sitastim cijevima floema koncentracija saharoze je oko 1M. Ti šećeri su potencijalni izvor hrane za fitoplazme. Međutim fitoplazme ne sadrže fosfotransferazni sistem (PTS) kojim većina bakterija energetski povoljno unosi i fosforilira šećere kao što su saharoza, glukoza i fruktoza. Fitoplazme posjeduju maltozni ABC-transporter s kojim mogu unositi maltozu, trehalozu, saharozu i platinozu. Međutim enzimi koji trebaju te šećere učiniti dostupnim za glikolizu nedostaju [8]. U biti, fitoplazma OY ima gen koji kodira fosforilazu saharoze koja cijepa saharozu na glukozu i fruktozu, ali je ORF nepotpun i nije uočena nikakva fosforilazna aktivnost, što ukazuje da je ovaj gen nefunkcionalan [7]. Zbog svega toga, izgleda da fitoplazme ovise o unosu fosforiliranih heksoza kao izvoru ugljika koji može učiniti glikolizu. No još uvijek metabolizam šećera u fitoplazmama nije dovoljno razjašnjen.

4.3. Ponavljajuće sekvence u genomima fitoplazmi

Sekvencirani genomi fitoplazmi ukazuju da postoji mnogo ponavljajućih regija u kromosomu, što dužih, što kraćih. To ukazuje na plastičnost njihovih genoma, tj. fitoplazme su kompenzirale svoja ograničenja horizontalnim transferom gena, rearanžmanom DNA i rekombinacijom između kromosoma i plazmida. Genom fitoplazmi sadrži grupe ponavljajućih sekvenci, nazvanih PMUs (potential mobile units). Prisutnost PMUs, njihovog genskog sadržaja koji uključuje gene za rekombinaciju (*tra5*, *ssb*, *himA*) i replikaciju (*dnaG*, *dnaB*) i njihov konzervirani poredak ukazuje da su PMUs replikativni transpozoni [1]. Uz to što PMUs mogu biti ugrađeni u kromosom, dokazano je da mogu biti i van kromosoma u cirkulariziranom samoreplicirajućem obliku (C-PMU) kod AY-WB. Uočeno je da se broj kopija izvankromosomskih PMUs dosljedno povećava tijekom infekcije insekata u usporedbi s biljnom infekcijom. To može značiti da su C-PMU uključeni u prilagodbu fitoplazmi na insektni mikrookoliš. Zanimljivo je da PMU-regije sadrže većinu proteina za koje se vjeruje da su

uključeni u manipuliranje metabolizmom životinjskih i biljnih domaćina. Oko 34 SAP (Secreted AY-WB Proteins) proteina, za koje se smatra da sudjeluju u virulenciji, pronađena su na PMU-regijama [9]. Vrlo je vjerojatno da PMUs imaju veliku ulogu i u evoluciji genoma fitoplazmi. Genom AY-WB je oko 150 kb manji od genoma OY najviše zbog manjeg broja PMU-sekvenci. Poravnanje ta dva genoma je ukazalo da regije koje sadržavaju PMUs u oba genoma trpe različite rearanžmane, a regije bez PMUs ne. To pokazuje da velike ponavljajuće sekvence imaju destabilizirajući i utjecaj na genom fitoplazmi, omogućuju i rekombinaciju, što rezultira delecijama, inverzijama i duplikacijama segmenata genoma. Tako nije iznenađujuće da kod AY-WB i OY esencijalni geni potrebni za najvažnije funkcije kao što su replikacija i metabolizam nalaze grupirani skupa u otprilike 250kb segmenta koji ne sadrži PMUs. Prisutnost PMUs u mnogim drugim fitoplazmama ukazuje da se ove duge ponavljajuće sekvence izmjenjuju među fitoplazmama i da su možda povezane s interakcijama fitoplazmi s domaćinom [1].

5. ZAKLJUČAK

Fitoplazme su pronađene u velikom broju biljnih vrsta diljem svijeta, izazivaju brojne biljne bolesti i čine velike štete u poljoprivredi. To je glavni razlog zbog kojeg se ovi patogeni dosta istražuju, poglavito u posljednje vrijeme zahvaljujući novim i boljim metodama molekularne biologije.

Specifičan životni ciklus uključuje replikaciju unutar jako različitih domaćina, biljaka (Carstvo Plantae) i kukaca (Carstvo Animalia). Fitoplazme su se savršeno prilagodile tom načinu života i vrlo uspješno manipuliraju brojnim vrstama iz oba navedena carstva. Minimalni genomini fitoplazme najjednostavnijim samoreplicirajućim oblikom života, na granici stanih organizama i virusa. Taj reducirani i vrlo fleksibilni genom krije mnoge zagonetke, ponajviše one koje su povezane s interakcijom između fitoplazmi i njenih domaćina. Najveća barijera pri karakteriziranju ovih organizama je ta što se ne mogu kultivirati na hranjivim podlogama. Zbog toga je jako bitno da se što više genoma fitoplazmi sekvencira, osobito onih koji nanose najviše štete u poljoprivredi, i uspoređi s već dosad sekvenciranim genomima. Na taj način bi se još bolje mogli utvrditi metabolički putevi i faktori virulencije koje koriste ovi organizmi u interakciji s biljkom domaćinom. Trenutno, to je i jedini način kojim bi se fitoplazme mogle još bolje i potpunije klasificirati i identificirati. Unos šećera je izuzetno bitan za sve organizme, pa tako i za ove bakterije. Utvrđivanje izvora ugljika te ATP molekula kao i rasvjetljenje metabolizma šećera fitoplazmi uvelike bi doprinijelo razumijevanju njihove patogenosti. Još uvijek neki znanstvenici polažu nadu da bi se fitoplazme mogle kultivirati. To bi trebao biti sljedeći korak u boljem razumijevanju ovih organizama. No i ako to bude neizvedivo, komparativnim analizama genoma ostalih fitoplazmi se može doći do bitnih spoznaja u istraživanju ovih kompleksnih patogena.

6. LITERATURA

1. Hogenhout, S.A., Oshima, K., Ammar, E., Kakizawa, S., Kingdom, H.N. and Namba S., *Phytoplasmas: bacteria that manipulate plants and insects*. Mol Plant Pathol, 2008. **9**: p. 403-23.
2. Bertaccini, A., *Phytoplasmas: diversity, taxonomy, and epidemiology*. Front Biosci, 2007. **12**: p. 673-89.
3. Weintraub, P.G. and L. Beanland, *Insect vectors of phytoplasmas*. Annu Rev Entomol, 2006. **51**: p. 91-111.
4. Bai, X., Correa, V.R., Toruño T.Y., Ammar, E., Kamoun, S. and Hogenhout, S.A., *AY-WB phytoplasma secretes a protein that targets plant cell nuclei*. Mol Plant Microbe Interact, 2009. **22**: p. 18-30.
5. Hoshi, A., Oshima, K., Kakizawa, S., Ishii, Y., Ozeki, J., Hashimoto, M., Komatsu, K., Kagiwada, S., Yamaji, Y. and Namba, S., *A unique virulence factor for proliferation and dwarfism in plants identified from a phytopathogenic bacterium*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009. **106**: 6416-21.
6. Pracros, P., Renaudin, J., Eveillard, S., Mouras, A. and Hernould, M., *Tomato flower abnormalities induced by stolbur phytoplasma infection are associated with changes of expression of floral development genes*. Mol Plant Microbe Interact, 2006. **19**: 62-8.
7. Oshima, K., Kakizawa, S., Nishigawa, H., Jung, H.Y., Wei, W., Suzuki, S., Arashida, R., Nakata, D., Miyata, S., Ugaki, M. and Namba, S., *Reductive evolution suggested from the complete genome sequence of a plant-pathogenic phytoplasma*. Nat Genet, 2004. **36**: 27-9.
8. Christensen, N.M., Axelsen, K.B., Nicolaisen, M. and Shulz, A., *Phytoplasmas and their interactions with hosts*. Trends Plant Sci, 2005. **10**: 526-35.
9. Toruño, T.Y., Šeruga Musi, M., Simi, S., Nicolaisen, M. and Hogenhout, S., *Phytoplasma PMUI exists as linear chromosomal and circular extrachromosomal elements and has enhanced expression in insect vectors compared with plant hosts*. Mol Microbiol, 2010. **77**: 1406-15.

7. SAŽETAK

Fitoplazme su bakterije koje nemaju stanišnu stjenku i zbog toga pripadaju razredu *Mollicutes*. Ovi patogeni su intracelularni paraziti biljnog floema, a prenose se kukcima koji im služe i kao domaćini. Dok kod kukaca najčešće ne izazivaju nikakve smetnje, u inak fitoplazmi na biljne vrste je često poguban. Najčešći simptomi su filodija, virescencija, rast u obliku vještice, metle, crvenjenje i žučanje listova, nekroza floema. Poznavanje biologije ovih specifičnih organizama je dosta ograničeno zbog toga što se ne mogu kultivirati na hranjivim podlogama. No u posljednje vrijeme pošlo se s potpunim sekvenciranjem genoma fitoplazmi, što je dovelo do brojnih novih spoznaja. Imaju iznimno reducirane genome (680 – 1600 kb). Nedostaju im mnogi esencijalni geni u različitim metaboličkim putevima, a najznačajniji nedostatak su geni za sve podjedinice ATP-sintaze, kao i geni za uzimanje i iskorištavanje šećera. To nam ukazuje da fitoplazme aktivno unose metabolite domaćina. No mnogi od tih mehanizama unosa i putova iskorištavanja domaćinskih metabolita nisu poznati kao i onaj o uzimanju ATP-a. Usprkos tome svemu fitoplazme vrlo uspješno preživljavaju i manipuliraju domaćinima iz dva različita carstva. Smatra se da su se tako dobro prilagodile na takav način života zbog plastičnosti genoma. Fitoplazme su kompenzirale svoja ograničenja horizontalnim transferom gena, rearanžmanima DNA i rekombinacijama između kromosoma i PMUs (*Potential Mobile Units*). Upravo ti PMUs sadrže gene koji su važni za preživljavanje i prilagodbu na različite domaćine. Za sada je najbolji način kojim možemo doći do novih spoznaja o fitoplazmama daljnje sekvenciranje fitoplazmatskih genoma i njihove komparativne analize.

8. SUMMARY

Phytoplasmas are bacteria without cell wall belonging to the class *Mollicutes*. These pathogens are intracellular parasites of plant phloem, transmitted by insects which also serve as their hosts. Phytoplasmas do not cause any disturbance to most insect hosts but their infections of plants is often fatal to this host type. The most common phytoplasma symptoms in plants are phyllody, virescence, witches broom, reddening or yellowing of leaves, necrosis of the phloem. Knowledge of the biology of these specific organisms is quite limited because they cannot be cultivated in culture medium. Nevertheless, in recent time the complete phytoplasma genome sequencing led to many new insights. Phytoplasmas have an extremely reduced genome (680 to 1600 kb). They lack many essential genes in different metabolic pathways, and most significantly, they can live with the lack of genes for ATP synthase subunits, as well as genes for sugar uptake and usage. It suggests that phytoplasmas efficiently uptake metabolites from the host. However, many of these uptake mechanisms are including the one for ATP. In spite of everything, phytoplasmas successfully survive and manipulate the hosts from two different kingdoms. It is believed that they have been so well adapted to that way of life because of their genome plasticity. Phytoplasmas compensated their genomic limitations by horizontal gene transfer, rearrangements of DNA and recombination between chromosomes and Potential Mobile Units (PMUs). PMUs contain genes that are important for survival and adaptation to different hosts. For the time being, one of the best ways to gain more knowledge on phytoplasmas is sequencing of additional phytoplasma genomes and comparative genome analysis.