

BIOLOGIJA INTERAKCIJ MED RASTLINAMI IN VIROIDI

Tanja GUČEK⁷, Sebastjan RADIŠEK⁸, Jernej JAKŠE⁹, Branka JAVORNIK¹⁰

UDC / UDK 577.2:632(045)

pregledni znanstveni članek / review article

received / prispelo: 15. oktober 2014

accepted / sprejeto: 19. november 2014

Izveček

Viroidi so najmanjši rastlinski patogeni, katerih genom je kratka, enoverižna, nekodirajoča, krožna molekula RNA. Okužijo lahko tako kulturne kot okrasne rastline in povzročajo bolezni, ki imajo ekonomsko pomemben vpliv. Obramba rastline pred viroidi poteka preko mehanizma utišanja RNA. Viroidi se zaradi kompaktne sekundarne strukture in lokalizacije v organelih temu mehanizmu lahko izognejo in mehanizem utišanja RNA obrnejo v svojo korist, tako, da sami utišajo izbrane gene svojih gostiteljev. Preko mehanizma utišanja RNA lahko viroidi utišajo gene, povezane z obrambo rastline, prenosom signala, strukturo celične stene in številne druge. To vodi v razvoj simptomov, kot so zaostajanje v rasti, zvižanje listov, nekroze stebela in listov, izkrivljenje plodov, v nekaterih primerih pa lahko rastline tudi odmrejo. Za lažje preprečevanje bolezni je ključnega pomena razumevanje mehanizma viroidne okužbe in odgovora rastline.

Ključne besede: rastlinski patogeni, viroidi, obramba rastline, utišanje RNA, viroidne okužbe, interakcije

BIOLOGY OF PLANT VIROID INTERACTIONS

Abstract

Viroids are the smallest plant pathogens; their genome is short, single-stranded, non-coding, circular RNA molecule. They can infect various cultivated and ornamental plants and cause diseases that may have a major economical impact. The plants defence against viroid pathogens is based on the mechanism of RNA silencing. Viroids can avoid this mechanism due to compact secondary structure and localization in organelles. Furthermore they can turn mechanism of RNA silencing in their favour, therefore they are able to silence selected host genes. By using the RNA silencing mechanism viroids can silence genes associated with plant defence, signal transmission, cell wall structure and many others. This leads to the development of symptoms such as dwarfing, leaf curling, stem and leaves

⁷ Uni. dipl. biokem., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec, e-naslov: tanja.gucek@ihps.si

⁸ Dr., prav tam, e-naslov: sebastjan.radisek@ihps.si

⁹ Prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, e-naslov: jernej.jakse@bf.uni-lj.si

¹⁰ Prof. dr., prav tam, e-naslov: branka.javornik@bf.uni-lj.si

necrosis, distortion of the fruits, in some cases, plants may also die. In order to facilitate disease prevention, it is crucial to understand the mechanism of viroid infection.

Key words: plant pathogens, viroids, plant defence, RNA silencing, viroid infections, interactions

1 UVOD

Rastline imajo v boju proti viroidom in ostalim patogenom razvite zelo zapletene obrambne mehanizme, ki potekajo na več ravneh. Prvo obrambno linijo predstavljajo kemične in fizične prepreke. Če patogenom uspe preiti te ovire, se sprožijo obrambni sistemi in specifično prepoznavanje povzročitelja bolezni (Carr in sod., 2010). Obrambna reakcija v rastlini povzroči biokemijske in morfološke spremembe kot so kopičenje fitoaleksinov, sprememba toka ionov, sinteza reaktivnih kisikovih zvrsti (ang. reactive oxygen species, ROS), sinteza proteinov povezanih s patogenezo (ang. pathogenesis related proteins, PR) in indukcija programirane celične smrti (Suzuki, 2002).

O samem razvoju bolezni na rastlinah odloča prisotnost specifičnih genov v patogenih, ki določajo obseg patogenosti, specifičnost in virulenco na določenem gostitelju. Rastline so lahko proti določenemu patogenu odporne, ker spadajo v taksonomsko skupino izven obsega patogenosti, ker so se okužbi izognile, ker so razvile mehanizme tolerance ali ker imajo gene za odpornost (ang. resistance, *R*). Tako ločimo tri tipe odpornosti rastlin: negostiteljsko, navidezno in pravo odpornost. Negostiteljska odpornost pomeni, da patogen napade rastlino, za katero nima ustreznih specifičnih virulencnih genov, zato do razvoja bolezni ne pride. Pri navidezni odpornosti lahko pride do izogiba bolezni ali pa do tolerance, ko rastlina kljub prisotnosti patogena brez posledic nadaljuje svoj razvoj. Prava odpornost pomeni, da je v rastlini prisoten en ali več genov za odpornost proti patogenom. Delimo jo na horizontalno in vertikalno odpornost. Horizontalna odpornost je poligenske narave, ki le delno zaščiti rastline pred okužbo oziroma samo upočasni napredovanje bolezni. Vertikalna odpornost je mono- ali oligogenska, ki s specifičnimi *R*-geni lahko poskrbi za visoko stopnjo odpornosti rastlin. Pri tem lahko rastlina na prisotnost patogena odgovori s preobčutljivostno reakcijo (ang. hypersensitive reaction, HR) (Vanderplank, 1984; Agrios, 2004).

2 OBRAMBA RASTLIN PRED PATOGENI

Rastline se pred patogeni branijo s kombinacijo predobstoječe strukturne obrambe in biokemičnih reakcij, ki so v različnih sistemih gostitelj-patogen različne. Fizične prepreke, kot so dlakavost listja, količina in kakovost kutikularnega voska in kutikule, struktura epidermalnih celičnih sten, velikost in oblika rež, patogenu

preprečijo vstop in širjenje po rastlini. V primeru vdora patogena v rastlino pa v biokemičnih reakcijah nastajajo spojine toksične za patogene (Agrios, 2004).

Obrambni odgovor proti patogenom poteka na molekularni ravni na dveh ravneh. Osnova prve je zaznavanje molekularnih vzorcev, ki so povezani s patogeni (ang. pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), s transmembranskimi receptorji, ki prepoznajo te vzorce (ang. pattern recognition receptors, PRRs), lociranimi v zunajcelični membrani (Jones in Dangl, 2006; Katagiri in Tsuda, 2010). To sproži obrambni odgovor, ki vključuje spremembe encimske aktivnosti in izražanja genov ter vodi v aktivacijo s PAMPi sprožene imunosti (ang. PAMP-triggered immunity, PTI) (Pitzschke in sod., 2009; Šamajová in sod., 2013).

Na drugi ravni obrambe pride do neposredne ali posredne interakcije med produkti genov za odpornost rastline in produkti avirulenčnih genov (ang. avirulence, Avr) patogenov. Geni za odpornost nosijo zapis za R-proteine, ki delujejo kot znotrajcelični receptorji za patogene efektorje in sprožijo preobčutljivostno reakcijo. Ta odziv se imenuje z efektorji sprožena imunost (ang. effector-triggered immunity, ETI) in predstavlja pospešen PTI-odgovor, ki vodi v odpornost (Göhre in Robatzek, 2008; Šamajová in sod., 2013). Najbolj pogost odgovor na okužbo je preobčutljivostna reakcija (HR), ki pomeni smrt okužene celice in s tem zmanjšanje razvoja patogenih faktorjev na mestu okužbe. HR sledi sekundarna odpornost, ki se razširi po celi rastlini in jo imenujemo sistemsko pridobljena odpornost (ang. systemic acquired resistance, SAR) (Agrios, 2004; Carr in sod., 2010).

Poleg genov za odpornost ima rastlina tudi obrambne gene, ki zapisujejo PR-proteine. PR-proteini, ki delujejo kot encimi, sodelujejo pri sintezi fitoaleksinov, celjenju tkiv in obrambi celice pred oksidativnim stresom (Kyrychenko in Kovalenko, 2011).

V odgovor na okužbo s patogeni rastline aktivirajo signalne kaskade, ki vodijo v nakopičenje endogenih hormonov. Salicilna kislina (SA), jasmonska kislina (JA), abscizinska kislina (ABA), etilen (ET) in dušikov oksid (NO) so rastlinski hormoni, ki samostojno ali v kombinacijami z drugimi signalnimi potmi sodelujejo pri obrambi pred povzročitelji bolezni (Rojo in sod., 2003).

2.1 Utišanje RNA

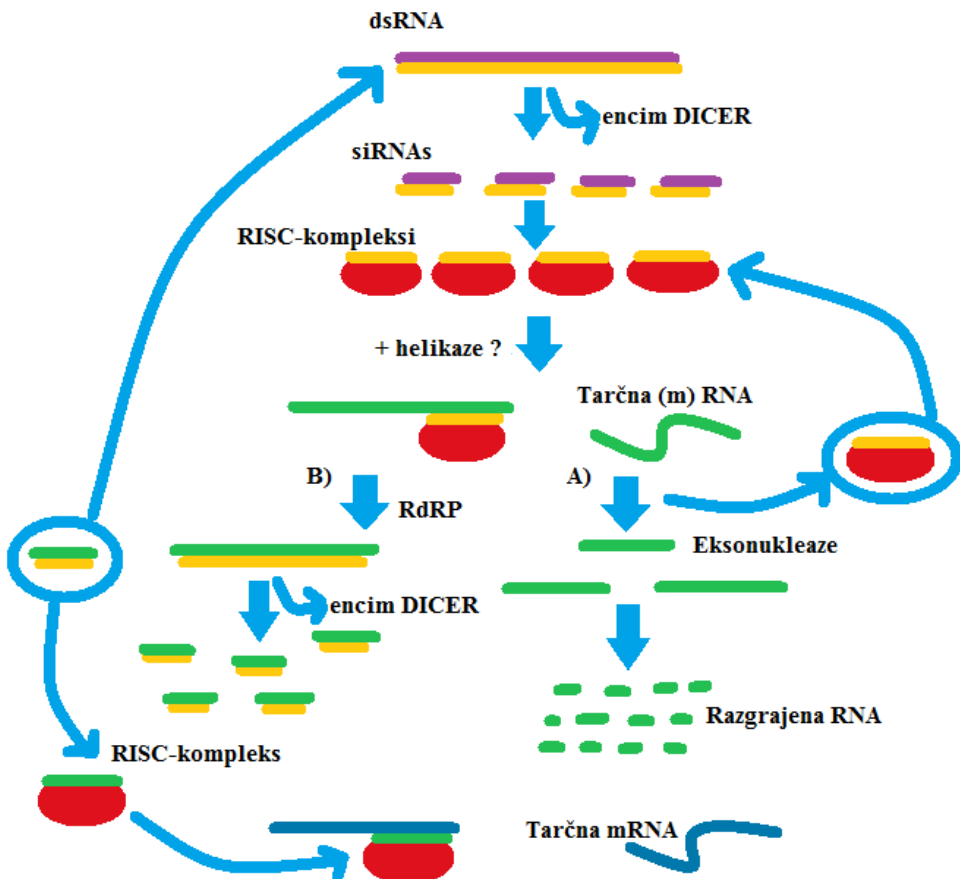
Poleg omenjenih mehanizmov odpornosti je utišanje RNA eden izmed načinov s katerim se rastline odzovejo na napad RNA virusov in viroidov (Gómez in sod., 2009). Proces lahko razdelimo na z RNA povezano transkripcijsko utišanje genov (ang. transcriptional gene silencing, TGS) in post-transkripcijsko utišanje genov (ang. post-transcriptional gene silencing, PTGS). Oba procesa sprožijo endogene

ali eksogene dvoverižne RNA molekule (dsRNAs), ki jih v različne razrede majhnih RNA molekul (sRNAs) razreže ribonukleazi III-podoben encim imenovan Dicer (ang. Dicer-like, DCL). V glavna razreda rastlinskih sRNAs štejemo mikro RNA molekule (miRNAs) in male interferenčne RNA molekule (siRNAs). Nastanek sRNAs je proces odvisen od ATP (adenozin-5'-trifosfat) in vključuje številne proteine, kot so dsRNA vezavni proteini in RNA helikaze. V naslednjem od ATP odvisnem procesu pride do denaturacije sRNAs in ena od verig sRNAs se veže v RISC-kompleks (ang. RNA-induced silencing complex, RISC). Tarče aktivnega kompleksa RISC so mRNA, ki so komplementarne sRNAs, in se na koncu razgradijo. Pri rastlinah lahko sRNAs služijo tudi kot začetni oligonukleotidi za sintezo dsRNA s pomočjo RNA-odvisne RNA polimeraze (ang. RNA-dependant RNA polymerase, RdRP). To vodi v nastanek še večjega števila sRNAs in ojačanje mehanizma utišanja genov (slika 1) (Sano in sod., 2010; Parisi in sod., 2010).

3 VIROIDI

Viroidi so najmanjši in najenostavnejši rastlinski patogeni. Sestavlja jih enoverižna, krožna RNA molekula velikosti med 239-475 nukleotidov (Tabler in Tsagris, 2004; Hammond in Owens, 2006). RNA molekula vsebuje informacije potrebne za znotrajcelični transport in lokalizacijo, reprodukcijo, sistemski transport in patogenost (Ding in Itaya, 2007). Viroidi povzročajo boleznih podobne virusom, čeprav so vsaj 10-krat manjši od njih, ne kodirajo niti enega zapisa za protein in nimajo kapside. Glede na strukturo in funkcijo več kot 30 znanih viroidov (preglednica 1) razdelimo v dve družini: *Pospiviroidae* in *Avsunviroidae* (Navarro in sod., 2012).

Viroidi imajo zelo širok spekter gostiteljev in lahko povzročajo boleznih, ki imajo velik vpliv na gospodarstvo. Okužijo lahko kulturne, okrasne rastline in nekatere drevesne sorte (Hadidi in sod., 2003). Simptomi okužbe z viroidi se kažejo kot zaostajanje v rasti, zvijanje listov, nekroze stebela in listov, izkrivljenje plodov, v nekaterih primerih pa lahko rastline tudi odmrejo (Hammond in Owens, 2006).



Slika 1: Mehanizem utišanja RNA. Dvoverižne molekule RNA se z encimom DICER razgradijo v siRNAs, ki se vključijo v RISC-kompleks. Tarčne mRNAs se v kompleksu razgradijo (A) ali pa z encimom RdRP sintetizirajo nove dsRNA (B). To privede do ojačanja mehanizma, ker z delovanjem encima DICER nastane še več siRNAs (povzeto po Parisi in sod., 2010).

Figure 1: RNA silencing mechanism. Double-stranded RNAs are cleaved with DICER into siRNAs, which interacts with RISC complex. Target mRNAs are in RISC complex degraded (A), or with RdRP help synthesize new dsRNA (B). This amplifies the mechanism because DICER produces even more siRNAs (adapted from Parisi et al., 2010).

Preglednica 1: Taksonomija in seznam viroidov. Rod, ime, okrajšava in dolžina viroidov (prirejeno po Hammond in Owens, 2006).

Table 1: Taxonomy and list of viroids. The genus, name, abbreviation and length of viroids (addapted from Hammond and Owens, 2006).

Rod viroida	Ime viroida (ang.)	Okrajšava viroida	Dolžina (nt)
<i>Družina Pospiviroidae</i>			
<i>Pospiviroid</i>	Potato spindle tuber viroid	PSTVd	341-364
	Chrysanthemum stunt viroid	CSVd	348-356
	Citrus exocortis viroid	CEVd	366-475
	Columnea latent viroid	CLVd	359-456
	Iresine viroid	IrVd	370
	Mexican papita viroid	MPVd	359-360
	Tomato apical stunt viroid	TASVd	360-363
	Tomato chlorotic dwarf viroid	TCDVd	360
	Tomato planta macho viroid	TPMVd	360
<i>Hostuviroid</i>	Hop stunt viroid	HSVd	294-303
<i>Cocadviroid</i>	Coconut cadang-cadang viroid	CCCVd	246-301
	Coconut tinangaja viroid	CTiVd	254
	Citrus bark cracking viroid	CBCVd	284-286
	Hop latent viroid	HLVd	255-256
<i>Apscaviroid</i>	Apple scar skin viroid	ASSVd	329-333
	Apple dimple fruit viroid	ADFVd	306
	Apple fruit crinkle viroid	AFCVd	368-372
	Australian grapevine viroid	AGVd	369
	Citrus bent leaf viroid	CBLVd	315-329
	Citrus dwarfing viroid	CDVd	291-297
	Grapevine yellow speckle viroid 1	GYSVd-1	365-368
	Grapevine yellow speckle viroid 2	GYSVd-2	363
	Pear blister canker viroid	PBCVd	314-316
<i>Coleviroid</i>	Coleus blumei viroid 1	CbVd-1	248-251
	Coleus blumei viroid 2	CbVd-2	295-301
	Coleus blumei viroid 3	CbVd-3	361-364
<i>Družina Avsunviroidae</i>			
<i>Avsunviroid</i>	Avocado sunblotch viroid	ASBVd	239-251
<i>Pelamoviroid</i>	Chrysanthemum chlorotic mottle viroid	CChMVd	397-401
	Peach latent mosaic viroid	PLMVd	335-351
<i>Elaviroid</i>	Eggplant latent viroid	ELVd	332-335

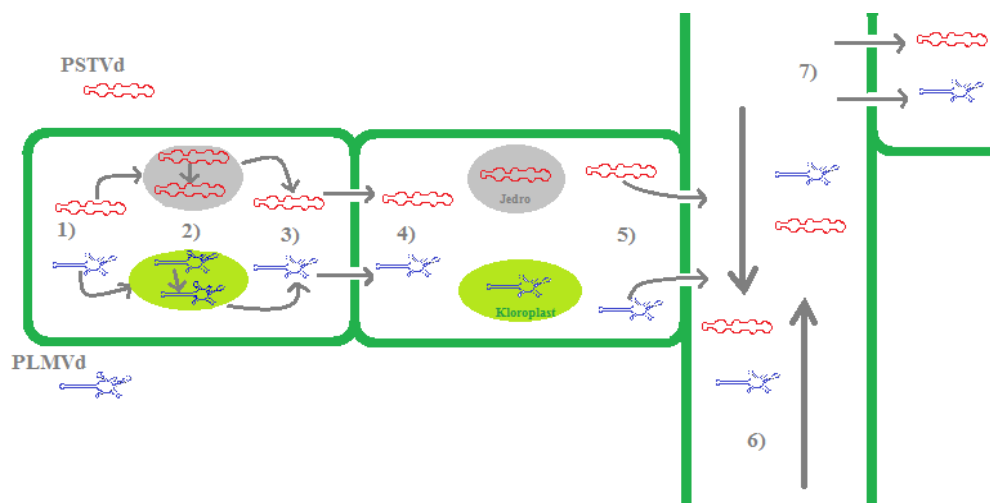
Za številne viroide je znano, da povzročajo bolezni, ki vplivajo tako na zmanjšanje kvalitete, kot tudi količine pridelka. Na Filipinih je uničenje kokosovih palm zaradi prisotnosti CCCVd od leta 1950 povzročilo gospodarske izgube v obsegu 66 milijonov ameriških dolarjev letno (Randles in Rodriguez, 2003). Na količino in kakovost pridelka krompirja močno vpliva okužba s PSTVd, ki lahko ob močnejših okužbah povzroči zmanjšanje pridelka tudi do 70 % (Owens in sod., 2009).

Primer bolezni z zelo hudimi simptomi je viroidna zakrnelost hmelja, ki jo povzroča HSVd. Obolele rastline hmelja po nekaj letih razvijejo šibkejšo in zbito rast, s prizadetimi listi in izrazito manjšimi storžki (Sano, 2003). Zakrnelost hmelja so najprej odkrili na Japonskem v 40 letih prejšnjega stoletja, kjer se je bolezen do leta 1960 razširila na glavna hmeljarska območja (Yamamoto in sod., 1973; Sano, 2003). Iz analiz izvora izbruhov HSVd je bilo ugotovljeno, da se je ta viroid na hmelj prenesel iz vinske trte, ki je rasla v bližini hmeljišč (Sano, 2003).

Izražanje simptomov je pri viroidih močno odvisno od razvojne faze rastline in vpliva okolja (Matoušek in sod., 2012). Okužba ene gostiteljske rastline je lahko latentna pri drugi pa isti viroid povzroča zelo agresivna bolezenska znamenja. Velikokrat se zgodi, da pride do hkratnih okužb z več viroidi, kar lahko zmanjša ali poveča intenzivnost obolenja. Viroidi se lahko širijo preko vegetativnega razmnoževanja rastlin, semen, medsebojnega stika rastlin in mehanskega prenosa, ki nastaja pri uporabi okuženega orodja in strojev (Hammond in Owens, 2006).

Za nastanek okužbe morajo viroidi v prvem koraku vstopiti v ustrezne organele rastlin, jedro za *Pospiviridae* in kloroplaste za *Avsunviridae*, v katerih se replicirajo. Replikaciji viroidov sledi izstop iz organelov in medcelični transport skozi plazmodezmo. Viroidi nato vstopijo v vaskularno tkivo in se skozi floem razširijo po celem rastlinskem sistemu. Ko viroidi izstopijo iz floema v neokužene celice se cikl ponovi (slika 2) (Ding in Itaya, 2007).

Viroidi aktivirajo obrambni sistem rastline na osnovi s patogenom povezanih proteinov (PR) in povzročijo kopičenje za viroide specifičnih malih RNA molekul (Flores in sod., 2005; Matoušek in sod., 2012). Kako viroidi povzročijo nastanek bolezni še vedno ostaja neznanka. Dosedanje študije so dokazale, da lahko viroidi regulirajo izražanje genov svojih gostiteljev, modificirajo fosforilacijo gostiteljevih proteinov in se povezujejo z gostiteljevimi proteini, ki so ključni pri transportu RNA in fosforilaciji proteinov. Viroidi lahko modificirajo izražanje genov vključenih v odgovor na stres in obrambo rastlin, prenos signala, transport aminokislin, strukturo celične stene in zatiranje utišanja RNA (Parisi in sod., 2010).



Slika 2: Širjenje viroidov v rastlini. 1) Viroidi najprej vstopijo v ustrezen organel, PSTVd v jedro, PLMVd pa v kloroplast. 2) Sledi replikacija viroidov in izstop iz organelov (3). 4) Nato viroidi skozi plazmodezmo okužijo naslednjo celico. 5) V naslednjem koraku vstopijo v vaskularni sistem in se skozi floem razširijo po celi rastlini (6). 7) Ko izstopijo iz floema v neokužene celice se cikel ponovi (povzeto po Ding in Itaya, 2007).

Figure 2: Trafficking of viroids through the plant. 1) Viroids first enter proper organelle, nucleus for PSTVd and chloroplast for PLMVd. 2) The following is a replication of viroids and exit from the organelle (3). 4) Then viroids infect the next cell through plasmodesma. 5) The next step is entering of the vascular system and the whole plant transport through the phloem (6). 7) When they exit the phloem they invade an uninfected cells and the cycle is repeated (adapted from Ding and Itaya, 2007).

4 MEHANIZEM INTERAKCIJE RASTLINA-VIROID

Mehanizem interakcije med rastlino in viroidom je še vedno slabo poznan, obstajajo hipotetični mehanizmi patogeneze viroidov, ki temeljijo na utišanju RNA. Kot že omenjeno je mehanizem utišanja RNA, ki ga rastline uporabljajo kot obrambo pred viroidi, dejansko način s katerim viroidi uveljavljajo svojo patogenost. Obstaja več hipotez na kakšen način se viroidi izognejo utišanju RNA: mehanizem, ki omogoča razgradnjo RNA, se nahaja v citoplazmi, medtem ko so viroidi locirani v jedru in kloroplastih, kompaktna sekundarna struktura in povezovanje z različnimi proteini pa jim omogoča, da so nedostopni za encime mehanizma utišanja (Parisi in sod., 2010). Viroidna RNA inducira utišanje RNA, za viroid specifične molekule sRNA, ki ob tem nastanejo, lahko delujejo na

utišanje izražanja fiziološko pomembnih genov gostitelja in inducirajo z razvojem bolezni povezane simptome (Gómez in sod., 2009). Na ravni TGS z viroidom inducirana RNA usmerja metilacijo genomske DNA, ki se kaže kot utišanje genov rastline. Aktivacija PTGS pa vodi v akumulacijo za viroid specifičnih malih RNA, ki se znotraj RISC-kompleksa povezujejo z različnimi zaporedji gostitelja. To vodi v utišanje mRNA gostitelja in razvoj različnih simptomov (Sano in sod., 2010).

Simptomi nastanejo zaradi direktne povezave med viroidno RNA in gostiteljskimi faktorji (proteini ali RNA) v citoplazmi ali organelih kot sta jedro in kloroplasti. Tako viroidi družine *Pospiviroidae* kot *Avsunviroidae* v celico vstopijo skozi plazmodezmo. V jedro nato vstopijo skozi jedrne pore, vstop v kloroplaste pa je še vedno nepoznan. Za viroid specifične molekule siRNA nastanejo v jedru in citoplazmi, kjer so prisotni encimi DCL. Molekule siRNA se v citoplazmi vežejo v RISC-kompleks ali pa s pomočjo encima RdRP tvorijo nove dsRNA. Vezava molekul siRNA v kompleks RISC ustavi translacijo gostiteljeve mRNA, vodi v njeno razgradnjo ali pa v metilacijo gostiteljeve DNA. Molekule siRNA lahko vežejo tudi genomsko RNA viroidov in s tem vplivajo na število viroidov (Flores in sod., 2005).

5 ZAKLJUČEK

Rastline so skozi evolucijo razvile zelo zapletene obrambne mehanizme, ki potekajo na več ravneh. Nekatere rastline so že v osnovi odporne na določene patogene, druge pa odpornost gradijo med samim napadom patogena. Kljub zelo uspešnim načinom obrambe, je viroidom na nek način uspelo mehanizme, ki bi jih med okužbo morali ustaviti, spreobrniti v svojo korist. Kako je to mogoče še vedno ostaja nepojasnjeno, obstajajo samo hipoteze, ki predvidevajo, da viroidi svojo patogenezno uveljavljajo preko mehanizma utišanja RNA.

Razvejana in kompaktna sekundarna struktura ter replikacija znotraj organelov jim omogoča, da se lahko izognejo obrambnim mehanizmom rastline. Preko mehanizma utišanja genov delujejo na izražanje gostiteljevih genov, ki so vključeni v odgovor rastline na stres, obrambo, prenos signala, strukturo celične stene in utišanje RNA. Ta način jim omogoča, da lahko povzročijo zelo hude simptome, v nekaterih primerih celo odmrtnje rastlin. Celotno razkritje interakcij med viroidi in rastlinami bi lahko v prihodnosti omogočilo nove pristope pri preprečevanju viroidnih bolezni.

6 LITERATURA

- Agrios, G.N. Plant pathology. Fifth edition. ELSEVIER academic press, California, USA. 2004.
- Carr, J.P., Lewsey, M.G., Palahaitis, P. Signaling in Induced Resistance. *Advances in Virus Research*. 2010; 76: 57-103.
- Ding, B., Itaya, A. Viroid: A useful model for studying the basic principles of infection and RNA biology. *MPMI*. 2007; 20: 7-20.
- Flores, R., Hernández, C., Martínez de Alba, A.E., Daròs, J.-A., Di Serio, F. Viroids and viroid-host interactions. *Annual Review of Phytopathology*. 2005; 43: 117-139.
- Göhre, V., Robatzek, S. Breaking the barriers: Microbial effector molecules subvert plant immunity. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2008; 46: 189-215.
- Gómez, G., Martínez, G., Pallás, V. Interplay between viroid-induced pathogenesis and RNA silencing pathways. *Trends in plant science*. 2009; 14: 264-269.
- Hadidi, A., Flores, R., Randles, J.W., Semancik, J.S. Viroids. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia. 2003.
- Hammond, R.W., Qwens, R.A. Viroids: New and continuing risks for horticultural and agricultural crops. Online: *APSnet Features*. doi: 10.1094/APSnetFeature-2006-1106. 2006.
- Jones, J.D.G., Dangl, J.L. The plant immune system. *Nature*. 2006; 444: 323-329.
- Katagiri, F., Tsuda, K. Understanding the plant immune system. *MPMI*. 2010; 23: 1531-1536.
- Kyrychenko, A.M., Kovalenko, O.G. Genetic Basis and Functioning of the Signal Transduction System in Plants under Conditions of Viral Resistance. *Cytology and Genetics*. 2011; 45: 249-258.
- Matoušek, J., Riesner, D., Steger, G. Viroids: The smallest known infectious agents cause accumulation of viroid-specific small RNAs. From nucleic acids sequences to molecular medicine. *RNA technologies*. DOI 10.1007/978-3-642-27426-8_26. 2012.
- Navarro, B., Gisel, A., Rodio, M.-E., Delgado, S., Flores, R., Di Serio, F. Viroids: How to infect a host and cause disease without encoding proteins. *Biochimie*. 2012; 94: 1474-1480.
- Owens, R.A., Girsova, N.V., Kromina, K.A., Lee, I.M., Mozhaeva, K.A., Kastalyeva, T. Russian isolates of Potato spindle tuber viroid exhibit low sequence diversity. *Plant Disease*. 2009; 93: 752-759.
- Parisi, O., Lepoivre, P., Jijakli, M.H. Plant-RNA viroid relationship: a complex host pathogen interaction. *Biotechnol. Agron. Soc. environ*. 2010; 14: 461-470.
- Pitzschke, A., Schikora, A., Hirt, H. MAPK cascade signalling networks in plant defence. *Current Opinion in Plant Biology*. 2009; 12: 1-6.
- Randles, J.W. in Rodriguez, M.J.B. Palm tree viroids: Coconut cadang cadang viroid. In: Hadidi A, Flores R, Randles JW, Semancik JS (eds). Viroids. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia. 2003: 233-241.
- Rojo, E., Solano, R., Sánchez-Serrano, J.J. Interactions Between Signaling Compounds Involved in Plant Defense. *J. Plant Growth Regul.* 2003; 22: 82-98.
- Sano, T. Hop stunt viroid. In: Hadidi A, Flores R, Randles JW, Semancik JS (eds). Viroids. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia, 2003: 207-212.

- Sano, T., Barb, M., Li, S.-F., Hadidi, A. Viroids and RNA silencing. *GM Crops*. 2010; 1:2: 80-86.
- Suzuki, K. MAP kinase cascades in elicitor signal transduction. *J. Plant Res.* 2002; 115: 237-244.
- Šamajová, O., Plíhal, O., Al-Yousif, M., Hirt, H., Šamaj, J. Improvement of stress tolerance in plants by genetic manipulation of mitogen-activated protein kinases. *Biotechnology Advances*. 2013; 31: 118-128.
- Tabler, M., Tsagris, M. Viroids: petite RNA pathogens with distinguished talents. *Trends in plant science*. 2004; 9: 339-348.
- Vanderplank, J. E. Disease Resistance in Plants. 2nd Ed. Academic Press, Orlando, FL. 1984.
- Yamamoto, H., Kagami, Y., Kurukawa, M., Nishimura, S., Kubo, S. Studies on hop stunt disease in Japan. *Report of the Research Laboratories of Kirin Brewery Co., Ltd.* 1973; 16: 49-62.