

Los begomovirus

María del Rosario Rojas

University of California
Davis, USA

Introducción

La mayoría de los virus que infectan plantas (80 a 90%) tienen RNA de cadena sencilla como componente genético. El resto de los virus fitopatógenos, contienen DNA como genoma. Actualmente, existe una familia reconocida de virus fitopatógenos que poseen genoma de DNA de cadena sencilla, la familia *Geminiviridae*. El genoma de los geminivirus está compuesto de una o dos moléculas de DNA de cadena sencilla circular y de reducidas dimensiones (cada DNA es aproximadamente de 2.5 a 3.0 kb). Así, el total del tamaño del genoma varía de 2.5-5.0 kb, lo cual coloca a los geminivirus como uno de los virus más pequeños en poseer genomas de replicación independiente, y como uno de los únicos virus de DNA en poseer el genoma dividido. El nombre de los geminivirus proviene de la morfología característica de su cápside, la cual asemeja dos poliedros regulares idénticos (gemelos o geminados) fusionados por una de sus caras. El tamaño de los viriones es de 18 x 30 nanómetros (Harrison, 1985; Timmermans *et al.*, 1994).

Clasificación de los geminivirus

De acuerdo a su estructura genómica, el vector que los transmite y los hospederos que infectan, la familia *Geminiviridae* está dividida en cuatro géneros: *Mastrevirus*, deriva su nombre de su virus tipo, el *Maize streak virus* (MSV). Este género está constituido por geminivirus del Viejo Mundo, con un solo componente genómico, los cuales infectan exclusivamente monocotiledoneas y son transmitidos por cicadélidos (Mullineaux *et al.*, 1984). El segundo género, *Curtovirus*, nombre derivado del virus tipo, el *Beet curly top virus* (BCTV), está formado por geminivirus distribuidos en el Viejo y Nuevo Mundo, con un solo componente genómico, infectan dicotiledoneas y son también transmitidos por cicadélidos (Stanley *et al.*, 1986). El tercer género: *Begomovirus*, nombre derivado del virus tipo, *Bean golden mosaic virus* (BGMV), (Howarth *et al.*, 1985), está formado

por virus distribuidos en el Viejo y Nuevo Mundo, de uno o dos componentes genómicos, solo infectan dicotiledoneas y son transmitidos por mosquitas blancas (*Bemisia tabaci* Genn., incluyendo el biotipo B, también conocido como *B. argentifolii*). El *Virus del enrollamiento de la hoja del tomate* (TLCV) (Dry *et al.*, 1993) y varios aislamientos del *Virus del enrollamiento amarillo de la hoja de tomate* (TYLCV) (Navot *et al.*, 1991), son begomovirus atípicos, ya que a pesar de ser transmitidos por mosquitas blancas, poseen genomas monopartitas. Estos geminivirus podrían ser intermediarios en la evolución entre los geminivirus monopartitas y los bipartitas. Recientemente se ha creado un cuarto género, *Topocuvirus*, para incluir al *Tomato pseudo-curly top virus*, transmitido por el membrácido *Micrutalis malleifera*. Este virus es relacionado al BCTV (nota del editor).

Organización genómica de los begomovirus

El genoma bipartita de los begomovirus está compuesto de dos componentes de DNA, denominados DNA-A y DNA-B, los cuales codifican por funciones virales esenciales y necesarias para establecer infección sistémica (Figura 1). Especies de este género presentan diferente organización genómica, lo cual refleja la diversidad biológica (evolución) de los geminivirus. Sin embargo, existe una serie de características conservadas entre todos los begomovirus:

a) La organización genómica de los geminivirus determinada por análisis de secuencia y estudios de mapeo de transcritos, sugiere un mecanismo de regulación temporal de sus genes. Los genes o marcos abiertos de lectura (ORFs) presentan una estrategia de expresión bidireccional o divergente. Los genes son nombrados de acuerdo al componente y la cadena de DNA en que se encuentren [sentido viral (V) o complementario (C)]. El componente DNA-A posee cuatro genes; tres en la cadena complementaria: AC1, AC2, y AC3, y uno en el sentido viral: AV1. Los genes AC poseen secuencias traslapadas en ciertas regiones, la cual es una estrategia que le permite al virus ser más eficiente, debido al pequeño tamaño de su genoma. El componente B codifica por dos genes, uno en la cadena complementaria, BC1, y otro gen en el sentido viral, BV1.

b) No existe similitud entre las secuencias de los nucleótidos de los dos componentes de DNA de un mismo begomovirus, excepto por una región de 200 pares de bases llamada Región Común (Figura 1). La Región Común no codifica por proteínas y contiene secuencias que se encuentran

involucradas en la replicación del DNA viral y en la expresión de los genes. La Región Común de todos los geminivirus contiene una región estructuralmente conservada, la cual tiene el potencial de formar una horquilla, cuya estructura es absolutamente necesaria para la replicación y expresión de los genes. La secuencia TAATATTAC es conservada entre todos los begomovirus y se encuentra ubicada en el asa de la horquilla.

c) Los geminivirus se replican en el núcleo de la célula infectada por un mecanismo de círculo rodante. Las proteínas asociadas con la replicación (AC1, AC3) son requeridas en este proceso, al igual que factores del huésped como factores de transcripción y polimerasas de DNA. La replicación por círculo rodante en geminivirus ha sido confirmada por la presencia de formas replicativas de cadena doble, en plantas infectadas por el *Virus del mosaico dorado del tomate* (TGMV) y el BGMV; y de cadena doble parcial, en plantas infectadas por BCTV y el *Virus del mosaico africano de la yuca* (ACMV) (Saunders *et al.*, 1991; Stenger *et al.*, 1991).

d) El componente A codifica todas las funciones virales necesarias en la replicación y encapsidamiento del genoma. La proteína *Rep* codificada por el gen AC1, se encuentra directamente involucrada en la replicación (Elmer *et al.*, 1988; Brough *et al.*, 1988; Etesami *et al.*, 1988). La proteína *Rep* solo reconoce los sitios de unión de su propio origen. Por ejemplo, la proteína *Rep* del mosaico dorado del frijol (BGMV) solo reconoce la secuencia de su sitio de alta afinidad (5'TGGAGACTGGAG) y no la secuencia de otro begomovirus, como el caso del TGMV. Además, la proteína *Rep* presenta actividad endonucleótica, la cual utiliza para iniciar la replicación del genoma por círculo rodante. La proteína *Rep* se localiza en el núcleo de la célula infectada induciendo acumulación de una proteína (antígeno nuclear de proliferación celular o PCNA) involucrada en la síntesis de DNA en células terminalmente diferenciadas (Nagar *et al.*, 1995). La proteína AC2 es un activador transcripcional del gen de la proteína de cápside (Sunter *et al.*, 1990). Mutaciones en el gen AC2 afectan el movimiento sistémico del virus, debido a los niveles reducidos de expresión de la proteína BV1 (Sunter y Bisaro, 1992). La proteína AC3 contribuye al proceso replicativo de manera indirecta. Los niveles de ADN de cadena sencilla y doble son significativamente reducidos en mutantes en el gen AC3 (Sunter *et al.*, 1990).

La proteína de cápside es codificada por el gen AV1 (Townsend *et al.*, 1985). La proteína de cápside determina la especificidad de los insectos

vectores y es necesaria para la transmisión del virus por insectos, siendo así un requisito para la transmisión del virus de planta a planta. Sin embargo, la proteína de cápside no es necesaria en el desplazamiento sistémico de los begomovirus en la planta. Azzam *et al.* (1992), demostraron que mutantes en la proteína de la cápside del BGMV de Guatemala, retuvieron la capacidad de moverse sistémicamente en plantas de frijol, pero el virus no pudo ser transmitido por *B. tabaci*.

e) El componente B de los geminivirus bipartitas codifica las funciones necesarias para el desplazamiento del virus dentro de la planta, el desarrollo de síntomas y el rango de hospederos. Estas funciones están codificadas por las dos proteínas de movimiento, la BC1 y la BV1 (Ettesami *et al.*, 1988; Brough *et al.*, 1988). Estudios realizados con el *Virus del mosaico enano del frijol* (BDMV), demostraron que ambas proteínas tienen la capacidad de unir, en ensayos *in vitro*, ácidos nucleicos de cadena sencilla o doble. Además, usando micro-inyecciones, se determinó que la proteína BV1 se localiza en el núcleo, y que la proteína BC1 puede potenciar el movimiento de ácidos nucleicos de célula a célula a través de los plasmodesmos (Noueiry *et al.*, 1994).

Diversidad genética y evolución

Los geminivirus son un grupo de virus de plantas que están emergiendo rápidamente. Los más recientes brotes de enfermedades causadas por geminivirus han sido asociados con aumentos en la población del insecto vector, las mosquitas blancas, y con la rápida evolución viral (Brown y Bird, 1992). Diferentes técnicas han sido utilizadas para analizar la variabilidad genética de diferentes aislamientos de geminivirus, las cuales incluyen estudios de infectividad, análisis serológicos, hibridación de ácidos nucleicos, análisis de secuencias, y experimentos con pseudorecombinantes. Dentro de la familia *Geminiviridae*, la mayor cantidad de geminivirus descritos (58) pertenecen al género *Begomovirus*, en comparación con pocos geminivirus (16) determinados dentro de los otros géneros (Murphy *et al.*, 1995). Además, usando estudios de infectividad, se ha encontrado que estos 58 begomovirus pueden infectar 40 especies diferentes de plantas, entre las cuales se encuentran cultivos económicamente importantes como tomate, chile, frijol común, melón y yuca. Esta aparente diversidad en el rango de hospederos de los begomovirus, disminuye cuando otros métodos moleculares de análisis de diversidad genética son utilizados. Análisis de secuencias de nucleótidos han revelado que las secuencias del componente

DNA-A son más conservadas que las secuencias del componente DNA-B, y que las secuencias que no codifican por proteínas, como la Región Común y las Regiones Intergénicas, poseen las secuencias más divergentes entre todos los geminivirus bipartitas (Gilbertson *et al.*, 1991c; Padidam *et al.*, 1995). Otro aspecto que debe de tomarse en cuenta, es la especificidad patogénica y la capacidad de adaptación de los geminivirus bipartitas a diversos hospederos. Infecciones virales en plantas que son pobremente adaptadas al virus, o plantas no hospederas, están generalmente asociadas con niveles reducidos de DNA viral, baja infectividad, síntomas atenuados o plantas asintomáticas. Esto es debido a una interacción incompatible entre el virus y el hospedero, o a la capacidad del hospedero de usar sus mecanismos de defensa en respuesta al ataque del virus y así limitar la extensión de la infección.

La diversidad genética se puede observar también entre aislamientos de lo que se consideraba un solo virus, como es el caso del *Virus del mosaico dorado del frijol* (BGMV). Ahora sabemos que existen diferentes especies de virus que causan el mosaico dorado del frijol, las cuales son clasificadas según sus secuencias de DNA y sus propiedades biológicas, tales como transmisión mecánica, reacciones obtenidas en el germoplasma de frijol, y la habilidad de formar pseudorecombinantes que sean infecciosos. Los aislamientos que se encuentran en América del Sur, específicamente en Brasil (BGMV-BR), no se pueden transmitir mecánicamente, mientras que los aislamientos de la América Central, El Caribe y la parte sur de México, por ejemplo, Guatemala (BGYMV-GA), Puerto Rico (BGYMV-PR), la República Dominicana (BGYMV-DR), Florida (BGYMV-FL) y México (BGYMV-MX), si se pueden transmitir mecánicamente. Estas dos especies han sido tentativamente designadas como BGMV (América del Sur) y BGYMV (*Virus del mosaico dorado amarillo del frijol*) para la especie mesoamericana.

Pseudorecombinantes

Los pseudorecombinantes (PRs) son formados cuando los diferentes componentes infecciosos de dos geminivirus bipartitas (DNA-A y DNA-B) son intercambiados y forman un nuevo geminivirus, el cual es también infeccioso. Los PRs son de mucha utilidad ya que sirven como herramienta para estudiar las relaciones filogenéticas, la evolución viral y la función de los diferentes genes de los geminivirus bipartitas. Además, los PRs han sido utilizados para estudiar la replicación viral, la especificidad de los

hospederos y los determinantes de síntomas en los geminivirus bipartitas (Hou y Gilbertson, 1996). La capacidad de formar un PR infeccioso entre dos begomovirus diferentes, ha sido propuesta como uno de los criterios para distinguir entre aislamientos y especies de geminivirus (Stanley, 1991). De hecho, la producción de PRs infecciosos ha sido generalmente limitada a aislamientos o cepas dentro de una misma especie del virus. Sin embargo, cabe mencionar que existen casos en los cuales PRs infecciosos han sido formados entre geminivirus de diferentes especies (Gilbertson *et al.*, 1993b; Hofer *et al.*, 1997), y casos de PRs que no han sido infecciosos, a pesar de haberse combinado variantes de una misma especie de geminivirus (Gilbertson *et al.*, 1993a). De esta manera, la habilidad de formar PRs que sean infecciosos puede ocurrir entre cepas de una misma especie, o entre dos especies virales que recientemente hayan evolucionado de un mismo ancestro común. Un ejemplo de falta de infectividad en los PRs formados entre diferentes especies de geminivirus, fué observado cuando se intercambiaron los componentes de aislamientos del *Virus del mosaico dorado amarillo del frijol* de Guatemala (BGMV-GA) con los del *Virus del mosaico dorado del frijol* del Brasil (BGMV-BR) (Gilbertson *et al.*, 1993a). Estos dos virus presentan secuencias muy divergentes, particularmente en la Región Común (~75%), además de diferencias en la transmisión mecánica. Un caso de PRs infecciosos entre begomovirus de diferentes especies, fué observado cuando el clón infeccioso del componente B del *Virus del mosaico enano del frijol* (BDMV) fue inoculado en combinación con el componente A del *Virus del moteado del tomate* (ToMoV) (Hou y Gilbertson, 1996). Los síntomas observados en este PR fueron más atenuados que los de los virus parentales, y los niveles de DNA del componente B fueron reducidos. En general, con este tipo de estudio se ha demostrado que en el DNA-B se encuentran los factores virales que determinan los síntomas y, en menor grado, la especificidad de hospederos.

Relaciones Filogenéticas

Una gran serie de geminivirus han sido clonados y secuenciados. Howarth y Vandermark (1989) han construido filogenias con las secuencias de los diferentes marcos de lectura de los geminivirus transmitidos por mosca blanca, encontrando que grupos de geminivirus de mayor homología correlacionan con su distribución geográfica. Un análisis proveniente de un fenograma derivado de la secuencia de la replicasa (AC1), clasificó los geminivirus del hemisferio occidental en cuatro grupos (Rojas, 1992). El agrupamiento de los diferentes geminivirus usados en este análisis puede ser

observado en el cladograma presentado en la Figura 2. El primer grupo lo forman los geminivirus que infectan frijol en América Central y la región Caribe. Estos son los begomovirus mesoamericanos: BGYMV-GA, BGYMV-DR, y el BGYMV-PR. El segundo grupo lo constituyen los begomovirus de la América del Sur: el *Virus del mosaico amarillo de la papa* (PYMV), *Virus del mosaico dorado del tomate* (TGMV) y el *Virus del mosaico dorado del frijol de Brasil* (BGMV-BR). El tercer grupo relaciona al *Virus del mosaico enano del frijol* (BDMV) con el *Virus del moteado del tomate* (ToMoV) y el *Virus del mosaico del abutilón* (AbMV). El cuarto grupo parece ser más discreto y relaciona claramente al *Virus del arrollamiento de la hoja de la calabaza* (SLCV) con el *Virus del mosaico cálico del frijol de México* (BCaMV). La validez de la clasificación de los begomovirus del hemisferio occidental en grupos, ha sido confirmada con la capacidad de formar PRs entre miembros de un mismo grupo.

Referencias

- Azzam, O., Fraser, J., de la Rosa, D., Beaver, J. S., Ahlquist, P., and D. P. Maxwell. 1994. Whitefly transmission and efficient ssDNA accumulation of bean golden mosaic geminivirus require functional coat protein. *Virology* 204: 289-296.
- Brough, C. L., Hayes, R. J., Morgan, A. J., Coutts, R. H. A., y K. W. Buck. 1988. Effects of mutagenesis in vitro on the ability of cloned tomato golden mosaic virus DNA to infect *Nicotiana benthamiana* plants. *J. Gen. Virol.* 69: 503-514.
- Brown, J. K., y J. Bird. 1992. Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Dis.* 76:220-225.
- Dry, I. B., Rigden, J. E., Krake, L. R., Mullineaux, P. M., y M. A. Rezaian. 1993. Nucleotide sequence and genome organization of tomato leaf curl geminivirus. *J. Gen. Virol.* 74:147-151.
- Elmer, J. S., Brand, L., Sunter, G., Gardiner, W. E., Bisaro, D. M., y S. G. Rogers. 1988. Genetic analysis of the tomato golden mosaic virus II. The product of the AL1 coding sequence is required for replication. *Nucleic Acid Res.* 18:2001-2006.
- Ettessami, P., Callis, R., Ellwood, S., y J. Stanley. 1988. Delimitation of essential genes of cassava latent virus DNA2. *Nucleic Acid Res.* 16:4811-4829.

- Gilbertson, R. L., Faria, J. C., Hanson, S. F., Morales, F. J., Ahlquist, P. G., Maxwell, D. P., and D. R. Russell. 1991. Cloning of the complete DNA genomes of four bean-infecting geminiviruses and determining their infectivity by electric discharge particle acceleration. *Phytopathology* 81:980-985.
- Gilbertson, R. L., Faria, J. C., Ahlquist, P., y Maxwell, D. P. 1993a. Genetic diversity in geminiviruses causing bean golden mosaic diseases: The nucleotide sequence of the infectious cloned DNA components of a Brazilian isolate of bean golden mosaic geminivirus. *Phytopathology* 83: 709-715.
- Gilbertson, R. L., Hidayat, S. H., Paplomatas, E. J., Rojas, M. R., Hou, Y. M., y Maxwell, D. P. 1993b. Pseudorecombination between infectious cloned DNA components of tomato mottle and bean dwarf mosaic geminiviruses. *J. Gen. Virol.* 74:23-31.
- Harrison, B. D. 1985. Advances in geminiviruses research. *Ann. Rev. Phytopathol.* 23:55-82.
- Hou, Y. M., y Gilbertson, R. L. 1996. Increased pathogenicity in pseudorecombinant bipartite geminivirus correlates with intermolecular recombination. *J. Virol.* 70:5430-5436.
- Howarth, A. J., Caton, J., Bosset, M., y R. M. Goodman. 1985. Nucleotide sequence of bean golden mosaic virus and a model for gene regulation in geminiviruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 82:3572-3576.
- Howarth, A. J., y Vandermark, G. J. 1989. Phylogeny of geminiviruses. *J. Gen. Virol.* 70: 2717-2727.
- Murphy, F. A., Fauquet, C. M., Bishop, D. H. L., Ghabrial, S. A., Jarvis, A. W., Martelli, G. P., Mayo, M. A., y M. D. Summers. (eds) 1995. "Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses." Springer-Verlag Wien, New York.
- Mullineaux, P. M., Donson, J., Morris-Krsinich, B. A. M., Boulton, M. I., y J. W. Dacies. 1984. The nucleotide sequence of maize streak virus DNA. *EMBO J.* 3:3063-3068.
- Nagar, S., Pedersen, T. J., Carrick, K. M., Hanley-Bowdoin, L., y D. Robertson. 1995. A geminivirus induces expression of a host DNA synthesis protein in terminally differentiated plant cells. *Plant Cell* 7:705-719.
- Navot, N., Pichersky, E., Zeidan, M., Zamir, D., y H. Czosnek. 1991. Tomato yellow leaf curl virus: a whitefly-transmitted geminivirus with a single genome component. *Virology* 185: 151-161.
- Padidam, M., Beachy, R. N., y C. M. Fauquet. 1995. Classification and identification of geminiviruses using sequence comparisons. *J. Gen. Virol.* 76: 249-263.

Rojas, M. R. 1992. Detection and characterization of whitefly-transmitted geminiviruses by the use of polymerase chain reaction. Thesis. University of Wisconsin, Madison. 92 p.

Stanley, J., Marham, P. G., Callis, R. J., y Pinner, M. S. 1986. The nucleotide sequence of an infectious clone of the geminivirus beet curly top virus. EMBO J. 5:1761-1767.

Saunders, K., Lucy, A., y J. Stanley. 1991. DNA forms of the geminivirus African cassava mosaic virus consistent with a rolling circle mechanism of replication. Nucleic Acid Res. 19:2325-2330.

Stenger, D. C., Revington, G. N., Stevenson, M. C., y D. M. Bisaro. 1991. Replicational release of geminivirus genomes from tandemly repeated copies: evidence for rolling-circle replication of a plant viral DNA. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 88:8029-8033.

Sunter, G., y D. M. Bisaro. 1992. Transactivation of geminivirus AR1 and BR1 gene expression by the viral AL2 gene product occurs at the level of transcription. Plant Cell 4:1321-1331.

Sunter, G., Hartiz, M. D., Hormuzdi, S. G., Brough, C. L., y D. M. Bisaro. 1990. Genetic analysis of tomato golden mosaic virus: ORF AL2 is required for coat protein accumulation while ORF AL3 is necessary for efficient DNA replication. Virology 179:69-112.

Timmermans, M. C. P., Das, O. P., y J. Messing. 1994. Geminiviruses and their uses as extrachromosomal replicons. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 45:79-112.

Townsend, R., Watts, J., y J. Stanley. 1986. Synthesis of viral DNA forms in *Nicotiana plumbaginifolia* protoplasts inoculated with cassava latent virus (CLV); evidence for the independent replication of one component of the CLV genome. Nucleic Acid Res. 14:1253-1265.

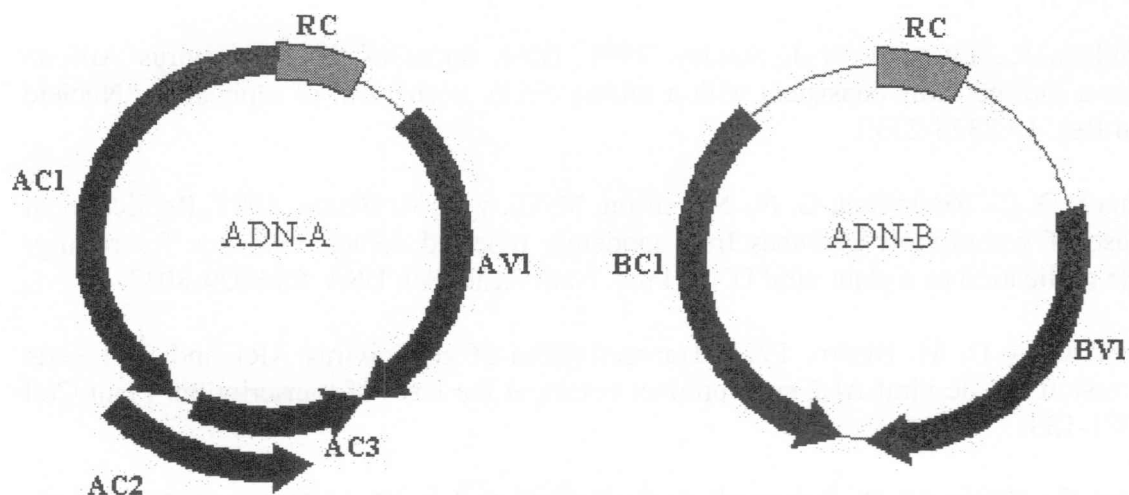


Figura 1. Organización típica del genoma de un begomovirus. Flechas describen la polaridad y el tamaño relativo de los marcos abiertos de lectura (genes). ADN-A = ADN del componente A; ADN-B = ADN del componente B; RC = región común; AV1 = proteína de cápside, primer marco abierto de lectura en sentido viral en el ADN-A; AC1 = la proteína Rep, primer marco abierto de lectura en el sentido complementario en el ADN-A; AC2 = activador transcripcional es el segundo marco abierto de lectura en el sentido complementario en el ADN-A; AC3 = tercer marco abierto de lectura en el sentido complementario en el ADN-A; BC1 = proteína de movimiento de célula a célula, primer marco abierto de lectura en el sentido complementario en el ADN-B; BV1 = proteína de movimiento, factor de exportación de ADN del núcleo, primer marco abierto de lectura en el sentido viral en el ADN-B.

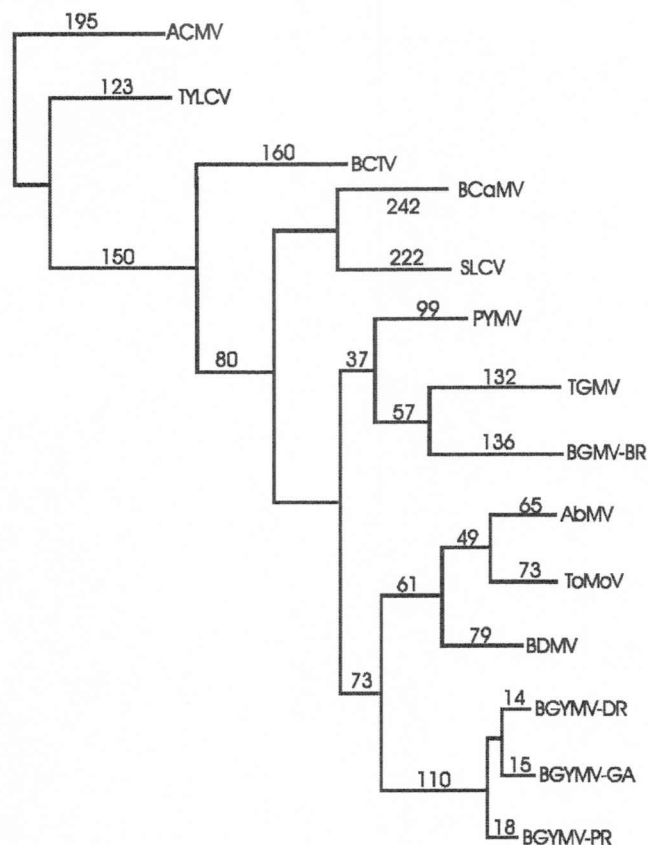


Figura 2. Cladograma derivado de las secuencias de nucleótidos del marco abierto de lectura de AC1 de 14 aislados de geminivirus (PAUP). Las distancias horizontales indican el número mínimo de diferencias en los nucleótidos que son necesarios para unir nudos. Las distancias verticales son arbitrarias. El índice de consistencia es igual a 0.60, y los tres cladogramas obtenidos presentan los mismos patrones de ramificación. ACMV = virus del mosaico de la yuca de Africa, viejo mundo; TYLCV = virus del enrollamiento de la hoja del tomate; BCTV = virus del ápice rizado de la remolacha; BCaMV = virus del mosaico cálico del frijol; SLCV = virus del enrollamiento de la hoja de la calabaza; PYMV = virus del mosaico amarillo de la papa; TGMV = virus del mosaico dorado del tomate; BGMV-BR = virus del mosaico dorado del frijol del Brasil; AbMV = virus del mosaico del abutilón; ToMoV = virus del moteado del tomate; BDMV = virus del mosaico enano del frijol; BGYMV-DR = virus del mosaico dorado amarillo del frijol de la Republica Dominicana; BGYMV-GA = virus del mosaico dorado amarillo del frijol de Guatemala; BGYMV-PR = virus del mosaico dorado amarillo del frijol de Puerto Rico.