

Genomas de geminivirus: pequeños pero matones

Jesús Navas Castillo

Laboratorio de Virología, Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea "La Mayora", Universidad de Málaga - Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMS-CSIC), Estación Experimental "La Mayora", 29750 Algarrobo-Costa, Málaga
jnavas@eelm.csic.es



Todos los organismos vivos poseen un genoma, constituido por ácido nucleico, que codifica las proteínas necesarias para completar su ciclo vital e interactuar con el medio ambiente. Sin entrar en la disquisición más o menos filosófica de si los virus son o no

organismos vivos, lo que sí puede afirmarse es que la vida en la Tierra no puede imaginarse sin la existencia de estos "sencillos" organismos. Los virus poseen un genoma de ácido desoxirribonucleico (ADN) o ácido ribonucleico (ARN) que suele encapsidarse en una cubierta proteica más o menos compleja que en ocasiones contiene componentes lipídicos. El tamaño del genoma viral varía enormemente entre especies. Así, entre los genomas virales de menor tamaño están aquellos de los circovirus, que apenas contienen dos mil nucleótidos y codifican sólo dos proteínas. En el extremo opuesto, los recientemente descubiertos pandoravirus, con un genoma de más de 2.500.000 nucleótidos, codifican más de dos mil proteínas [16]. En general, los virus de RNA poseen genomas de menor tamaño que los de DNA, en parte debido a que su mayor tasa de error al replicarse los limita a un tamaño máximo por encima del cual la acumulación de mutaciones impediría su replicación o los volvería poco competitivos. Para compensar este fenómeno, muchos virus de RNA poseen genomas segmentados, reduciendo así la probabilidad de que una mutación en un componente genómico sea letal para el genoma completo. En contraste, los genomas de los virus de ADN suelen poseer un mayor tamaño, asociado con una mayor fidelidad en su replicación. Sin embargo, algunos virus de ADN escapan a esta regla y poseen un genoma de pequeño tamaño, como numerosos virus con genoma de ADN de cadena sencilla (ADN-cs).

La necesidad práctica de compartimentar el mundo viral en entidades que puedan ser distinguibles entre sí, sobre las que exista un consenso por parte de los virólogos, justifica el desarrollo de un sistema de clasificación viral. La última taxonomía oficial publicada, que incluye a todos los virus que infectan animales, plantas, hongos, bacterias y arqueas, así como a los viroides, recoge 2284 especies de virus y viroides distribuidos en 349 géneros y 87 familias [8]. Una de estas familias, *Geminiviridae*, contiene virus con genoma circular de ADN-cs encapsidado en viriones geminados formados por la unión de dos icosaedros incompletos. Existen siete géneros dentro de esta familia, de los cuales el género *Begomovirus* es el mayor con diferencia, con más de 200 especies virales. La mayoría de los begomovirus poseen un genoma bipartito, compuesto por dos componentes, ADN-A y ADN-B, de alrededor de 2700 nucleótidos cada uno. El único componente de los begomovirus monopartitos es homólogo al ADN-A. El pequeño tamaño del genoma de estos virus es un paradigma de la economía utilizada por los virus en general en cuanto a maximizar la información genética utilizable a partir de la secuencia disponible. Así, varios de los genes codificados en el genoma de los begomovirus están solapados, es decir, una misma secuencia puede codificar distintas proteínas funcionales dependiendo del marco de lectura escogido.

Numerosos begomovirus causan graves enfermedades emergentes que afectan a numerosos cultivos de enorme importancia económica como el tomate, la mandioca o el algodón [15]. Los begomovirus se transmiten en la naturaleza por la mosca blanca (orden *Hemiptera*, familia *Aleyrodidae*) *Bemisia tabaci* de forma persistente y la mayor parte de ellos están limitados al floema de las plantas infectadas.

En los últimos años, el Laboratorio de Virología del IHSM-UMA-CSIC ha estado involucrado en una serie de proyectos conducentes a caracterizar nuevos begomovirus presentes tanto en España como en distintos países de Latinoamérica. La estrategia utilizada en la mayor parte de los casos se ha basado en la técnica denominada amplificación por círculo rodante (*rolling cir-*

cle amplification, RCA) utilizando la ADN polimerasa del fago $\Phi 29$ (Figura 1). Al contrario de otras técnicas de amplificación de ácidos nucleicos, como la reacción en cadena de la polimerasa (*polymerase chain reaction*, PCR), la aplicación de la RCA no necesita de un conocimiento previo de la secuencia viral y además amplifica específicamente moléculas circulares de ADN-sc.

Como resultado de este trabajo, hemos logrado clonar y secuenciar aislados pertenecientes a numerosas nuevas especies de begomovirus, que incluyen: i) dos begomovirus monopartitos originados como resultado de la recombinación entre especies del complejo del rizado amarillo del tomate (virus de la cuchara) previamente presentes en el sur peninsular, ii) cuatro sweepovirus (un grupo particular de begomovirus monopartitos que infecta batata y

especies afines) en España y en Brasil, iii) cuatro begomovirus bipartitos que producen graves enfermedades en tomate, pimiento y judía en Perú, Uruguay y Venezuela y iv) cinco begomovirus bipartitos que infectan especies silvestres en Cuba y Venezuela. Para algunos de estos nuevos virus hemos obtenido clones infectivos que han permitido demostrar los postulados de Koch para las enfermedades observadas en campo. La Tabla 1 recoge los nombres de estos virus así como los huéspedes donde fueron encontrados.

Los resultados, conclusiones e implicaciones de estos proyectos de secuenciación de nuevos geminivirus pueden resumirse en los puntos que se resumen a continuación.

- El objetivo final de la línea de investigación de nuestro laboratorio es el control de

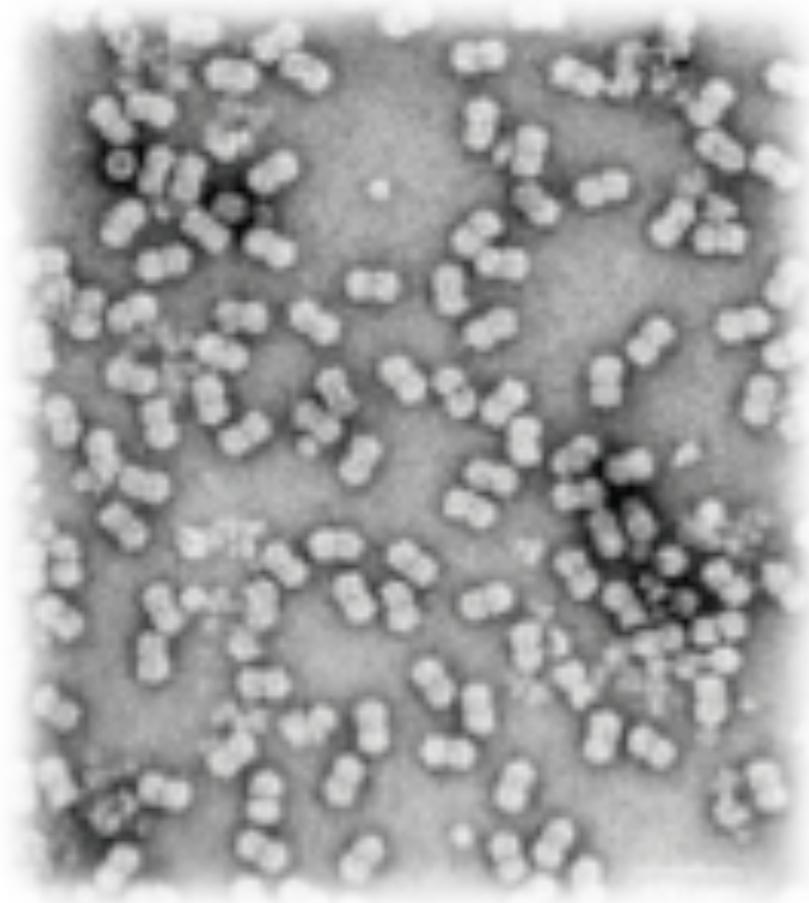
Virus (acrónimo)	Huéspedes naturales	País	Referencia
<i>Bean white chlorosis mosaic virus</i> (BWCMV)	judía	Venezuela	[3]
<i>Bean yellow chlorosis virus</i> (BYCV)	judía	Venezuela	[3]
<i>Dalechampia chlorotic mosaic virus</i> (DCMV)	<i>Dalechampia</i> sp., <i>Boerhavia diffusa</i>	Venezuela	[2]
<i>Datura leaf distortion virus</i> (DLDV)	<i>Datura stramonium</i>	Venezuela	[2]
<i>Pepper leafroll virus</i> (PepLRV)	pimiento, tomate, judía	Perú	[13]
<i>Rhynchosia golden mosaic Havana virus</i> (RhGMHaV)	<i>Rhynchosia minima</i>	Cuba	[5]
<i>Rhynchosia rugose golden mosaic virus</i> (RhRGMV)	<i>Rhynchosia minima</i>	Cuba	[5]
<i>Sida yellow mottle virus</i> (SiYMoV)	<i>Sida rhombifolia</i>	Cuba	[6]
<i>Sweet potato leaf curl Canary virus</i> (SPLCCaV)	batata	España	[10]
<i>Sweet potato leaf curl Lanzarote virus</i> (SPLCLaV)	batata	España	[10]
<i>Sweet potato leaf curl Sao Paulo virus</i> (SPLCSPV)	batata	Brasil	[1]
<i>Sweet potato leaf curl Spain virus</i> (SPLCESV)	batata, <i>Ipomoea indica</i>	España	[10]
<i>Tomato leaf deformation virus</i> (ToLDeV)	tomate, <i>Solanum pennellii</i> , <i>Anoda cristata</i> , <i>Tanacetum parthenium</i>	Perú	[11]
<i>Tomato rugose yellow leaf curl virus</i> (ToRYLCV)	tomate	Uruguay	[12]
<i>Tomato yellow leaf curl Axarquía virus</i> (TYLCAxV)	tomate, <i>Solanum nigrum</i>	España	[7]
<i>Tomato yellow leaf curl Málaga virus</i> (TYLCMaV)	tomate, judía	España	[14]

enfermedades virales, fundamentalmente aquellas transmitidas por mosca blanca, que causan daños cuantiosos a la producción hortícola en nuestro país y muchos otros de las zonas cálidas y templadas del mundo. **Conocer al enemigo** y determinar las armas con las que cuenta es un paso inicial imprescindible para tener éxito en su control eficiente y duradero. La caracterización del genoma viral es básico para alcanzar este objetivo.

- La abundancia y diversidad de begomovirus presentes en especies silvestres subrayan el papel de la **flora silvestre como huésped alternativo** para virus que pueden atacar asimismo a especies cultivadas. Se conocen numerosos casos de begomovirus originarios de especies silvestres que han colonizado cultivos como el tomate en América y Asia o la mandioca en África. Éste puede ser el caso para algunos de los nuevos begomovirus encontrados en especies silvestres.

de ADN-sc. La mayor parte de estos genomas muestran huellas genéticas de intercambio de fragmentos genómicos ocurridos en el pasado y, en algunos casos, hemos demostrado que los nuevos genomas poseen características patológicas distintas de los virus parentales. También hemos detectado posibles fenómenos de transferencia horizontal de genes (**horizontal gene transfer, HGT**) entre el genoma viral y el genoma del huésped.

- Nuestros resultados, junto con estudios recientes de metagenómica ponen de manifiesto que la diversidad de genomas que estamos observando es sólo la **punta del iceberg**. Así, en muy diversos ambientes se han amplificado genomas virales de ADN-sc, unos totalmente desconocidos hasta el momento y otros con cierta relación con los geminivirus. Estos ambientes incluyen algunas zonas que en principio son poco favorables para la vida, como algunos lagos de la Antártida [9]. Sin duda, el número de



- La caracterización de nuevos genomas ha confirmado la extraordinaria frecuencia con la que tiene lugar el fenómeno de **recombinación** en el mundo viral, sobre todo en los virus

especies/géneros/familias de virus con genoma circular de ADNsc que queda por descubrir es muy elevado.

• Se conoce un buen número de begomovirus monopartitos que se asocian con moléculas de ADN-sc que dependen de dichos virus para su replicación y/o transmisión, denominados betasatélites y alfasatélites. Estas entidades subvirales, con la mitad de tamaño de los componentes genómicos virales, codifican para una proteína y en algunos casos modifican la sintomatología causada por el virus ayudante. En nuestra búsqueda de genomas de begomovirus en Latinoamérica hemos descubierto una nueva clase de satélites más pequeños aún, con la mitad de tamaño de los betasatélites y los alfasatélites, sin capacidad codificante [4]. Que-

da por determinar la posible influencia que estos pequeños satélites, auténticos **parásitos de parásitos**, puedan tener sobre la acumulación viral o su papel como determinantes de patogenicidad.



150

Bibliografía citada:

1. Albuquerque LC, Inoue-Nagata AK, Pinheiro B, Ribeiro SG, Resende RO, Moriones E, Navas-Castillo J (2011) A novel monopartite begomovirus infecting sweet potato in Brazil. *Archives of Virology* 156: 1291-1294.
2. Fiallo-Olivé E, Chirinos DT, Geraud-Pouey F, Moriones E, Navas-Castillo J (2013a) Complete genome sequences of two begomoviruses infecting weeds in Venezuela. *Archives of Virology* 158: 277-280.
3. Fiallo-Olivé E, Márquez-Martín B, Hassan I, Chirinos DT, Geraud-Pouey F, Navas-Castillo J, Moriones E (2013b) Complete genome sequences of two novel begomoviruses infecting common bean in Venezuela. *Archives of Virology* 158: 723-727.
4. Fiallo-Olivé E, Martínez-Zubiaur Y, Moriones E, Navas-Castillo J (2012a) A novel class of DNA satellites associated with New World begomoviruses. *Virology* 426: 1-6.
5. Fiallo-Olivé E, Navas-Castillo J, Moriones E, Martínez-Zubiaur Y (2010) Two novel begomoviruses belonging to different lineages infecting *Rhynchosia minima*. *Archives of Virology* 155: 2053-2058.
6. Fiallo-Olivé E, Navas-Castillo J, Moriones E, Martínez-Zubiaur Y (2012b) Begomoviruses infecting weeds in Cuba: increased host range and a novel virus infecting *Sida rhombifolia*. *Archives of Virology* 157: 141-146.
7. García-Andrés S, Monci F, Navas-Castillo J, Moriones E (2006) Begomovirus genetic diversity in the native plant reservoir *Solanum nigrum*: evidence for the presence of a new virus species of recombinant nature. *Virology* 350: 433-442.
8. King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ (2012) *Virus Taxonomy*. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier, Academic Press.
9. López-Bueno A, Tamames J, Velázquez D, Moya A, Quesada A, Alcamí A (2009) High diversity of the viral community from an Antarctic lake. *Science* 326: 858-861.
10. Lozano G, Trenado HP, Valverde RA, Navas-Castillo J (2009) Novel begomovirus species of recombinant nature in sweet potato (*Ipomoea batatas*) and *Ipomoea indica*: taxonomic and phylogenetic implications. *Journal of General Virology* 90: 2550-2562.
11. Márquez-Martín B, Aragón-Caballero L, Fiallo-Olivé E, Navas-Castillo J, Moriones E (2011) Tomato leaf deformation virus, a novel begomovirus associated with a severe disease of tomato in Peru. *European Journal of Plant Pathology* 129: 1-7.
12. Márquez-Martín B, Maeso D, Martínez-Ayala A, Bernal R, Federici MT, Vincelli P, Navas-Castillo J, Moriones E (2012) Diverse population of a novel bipartite begomovirus infecting tomato crops in Uruguay. *Archives of Virology* 157: 1137-1142.
13. Martínez-Ayala A, Sánchez-Campos S, Cáceres F, Aragón-Caballero L, Navas-Castillo J, Moriones E (2013). Characterization and genetic diversity of pepper leafroll virus, a new bipartite begomovirus infecting pepper, bean and tomato in Peru. *Annals of Applied Biology* (en prensa)
14. Monci F, Sánchez-Campos S, Navas-Castillo J, Moriones E (2002) A natural recombinant between the geminiviruses Tomato yellow leaf curl Sardinia virus and Tomato yellow leaf curl virus exhibits a novel pathogenic phenotype and is becoming prevalent in Spanish populations. *Virology* 303: 317-326.
15. Navas-Castillo J, Fiallo-Olivé E, Sánchez-Campos S (2011) Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. *Annual Review of Phytopathology* 49: 219-248.
16. Philippe N, Legendre M, Doutre G, Couté Y, Poirot O, Lescot M, Arslan D, Seltzer V, Bertaux L, Bruley C, Garin J, Claverie JM, Abergel C (2013). Pandoraviruses: amoeba viruses with genomes up to 2.5 Mb reaching that of parasitic eukaryotes. *Science* 341: 281-286.