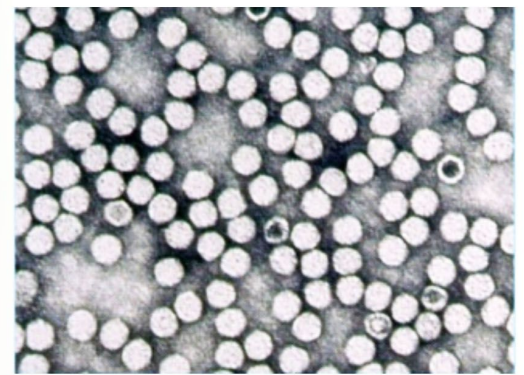
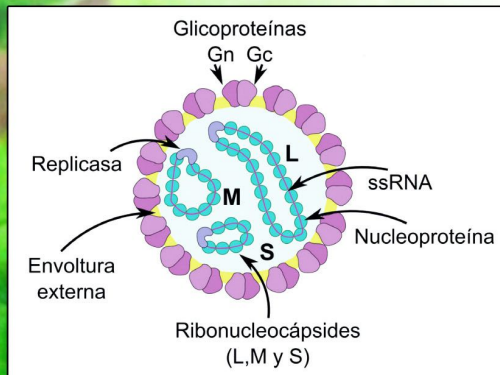
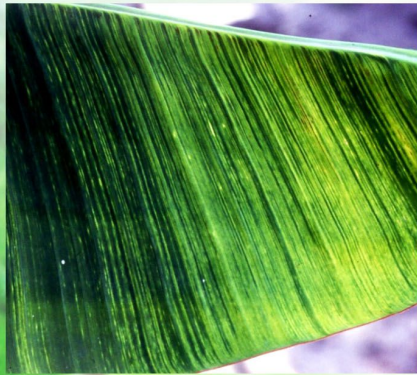
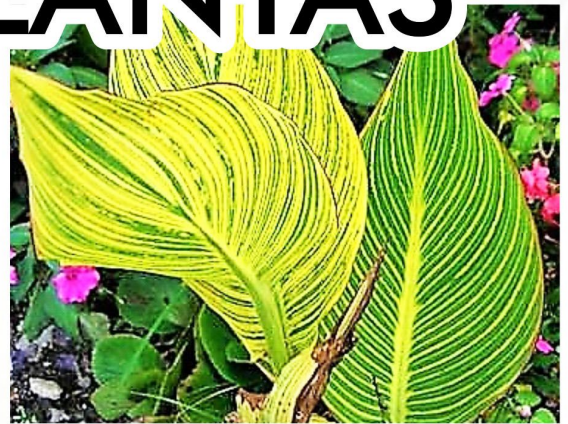




Universidad Central de Venezuela - Facultad de Agronomía
 Instituto de Botánica Agrícola
 Maracay

GENERALIDADES SOBRE VIRUS DE PLANTAS



Mario José Garrido

GENERALIDADES SOBRE VIRUS DE PLANTAS

Mario José Garrido

Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Instituto de Botánica Agrícola, Laboratorio de Virología Vegetal.
Apartado 4579, Maracay 2101, Venezuela. mario.garrido@ucv.ve

INTRODUCCIÓN

Las investigaciones científicas sobre enfermedades de plantas que actualmente se conocen como de origen viral se iniciaron a finales del siglo XIX. En esa misma época se formuló la teoría de que cada enfermedad era producida por un germen, y los patólogos tenían la seguridad de que las infecciones en las plantas eran debido a microorganismos que podían verse al microscopio de luz, cultivarse en medios artificiales y ser retenidos en los filtros. Sin embargo, reconocían que existía un grupo de patógenos que no cumplía con lo antes mencionado. Para detectar la presencia de bacterias productoras de enfermedades, solían probarse los fluidos infecciosos pasándolos a través de filtros capaces de retener las células bacterianas. Si el filtrado había perdido su capacidad de producir infección, esto indicaba la presencia de un agente bacteriano en el fluido original.

Adolph Mayer (1886) investigó una enfermedad del tabaco a la cual llamó "mosaico". Describió el desarrollo de la enfermedad en plantas infectadas, la cual podía transmitirse a plantas sanas frotándolas con savia foliar infectada. Mayer también demostró que calentando la savia a 80 °C (176 °F) durante varias horas mataba a la "sustancia infecciosa", y concluyó que podría tratarse de un tipo de bacteria.

Dimitri Iwanowski (1892) demostró que la savia de plantas de tabaco que presentaban la enfermedad descrita por Mayer permanecía infectiva después de haber sido filtrada a través de filtros que retenían hasta las bacterias de menor tamaño (bujías chamberland o filtros de porcelana). Asimismo, confirmó los resultados de Mayer en cuanto al tratamiento térmico y la infectividad. A partir de estos resultados, Iwanowski concluyó que el agente infeccioso era una bacteria muy pequeña o tal vez una toxina.

Martinus Beijerinck (1898) confirmó los resultados obtenidos por Iwanowski y demostró que el agente no solo pasaba los filtros antibacterianos sino que se difundía a través de bloques de agar, se multiplicaba en los tejidos infectados y permanecía al menos dos años en tejidos o extractos secos. Con base en sus estudios, concluyó que el mosaico del tabaco no era causado por una bacteria o un organismo vivo, sino por un fluido vivo contagioso (*contagium vivum fluidum*) al cual denominó virus. A medida que fueron descubiertas muchas enfermedades de este tipo, los agentes causales no conocidos fueron llamados virus filtrables. En el transcurso del tiempo, el adjetivo "filtrable" se fue gradualmente abandonando y la palabra virus se convirtió en una designación específica de grupo para estos agentes infecciosos. El término virus había sido usado antes del descubrimiento de los microbios para designar a los agentes productores de

enfermedades, aunque fueran bacterias, hongos o protozoarios. Sin embargo, fue Beijerinck el primero en utilizar el término virus en un contexto moderno.

Entre 1900 y 1935 fueron descritas numerosas enfermedades causadas por virus filtrables, pero existía una gran confusión, porque no habían sido desarrollados métodos capaces de distinguir un virus de otro. El criterio original de virus era una entidad infecciosa que podía pasar a través de los filtros que retenían a todos los agentes celulares conocidos causantes de enfermedades. Sin embargo, pronto fueron encontradas otras enfermedades que causaban síntomas de apariencia viral no asociados con patógenos visibles al microscopio de luz, y no podían ser transmitidas por inoculación mecánica. En este tipo de enfermedad el criterio de filtrabilidad no podía ser aplicado. Su naturaleza infecciosa era establecida por la transmisión a través de injertos y en algunos casos por insectos vectores. Esto ocasionó que enfermedades del tipo amarillamiento y superbrotamiento fueran atribuidas a virus, aunque de manera equivocada. Actualmente, se conoce que muchas de estas enfermedades son causadas por fitoplasmas y muy pocas por bacterias (*Rickettsiae*). Fue razonable, a la luz de los conocimientos hasta entonces existentes sobre los atributos de las enfermedades consideradas causadas por virus (transmisión por injerto y en muchos casos transmitidas también por vectores), que enfermedades similares con ese modo de transmisión y sintomatología se le atribuyera una etiología viral.

La verdadera naturaleza de los virus permaneció oscura durante varias décadas, pero quedó establecido que son un grupo distinto de seres biológicos, totalmente diferente a los organismos celulares en cuanto a su estructura y forma de desarrollo. Los trabajos de cristalización del virus del mosaico del tabaco (*Tobacco mosaic virus*, TMV) por W. M. Stanley (1935) y la demostración de que estos cristales tenían naturaleza nucleoproteica por F. C. Bawden y colaboradores (1936) revolucionaron la teoría germinal de la enfermedad, que asociaba ésta con el efecto de microorganismos de naturaleza celular. En ellos se mostraba por primera vez un patógeno consistente de una nucleoproteína cristalizante de naturaleza infecciosa cuando se inoculaba en células vivas. El descubrimiento del microscopio electrónico (1940) permitió identificar estos agentes por su forma y tamaño. Quedaban así perfiladas las características físico-químicas y biológicas básicas de los virus y se abría la entrada a la virología molecular, que iba a alcanzar un desarrollo extraordinario en la segunda mitad del siglo XX y principios del XXI, constituyendo el TMV la base de las investigaciones de lo que es hoy la virología, una ciencia multidisciplinaria de alcance mundial. Este virus se ha empleado durante más de 100

años como sistema modelo para la virología y la biología molecular.

La presencia de enfermedades producidas por virus en el hombre, los animales y las plantas es de larga data, a juzgar por los testimonios artísticos y escritos de distintas épocas. Con el tiempo, las enfermedades representadas o descritas pudieron asociarse con virus específicos cuando éstos fueron adecuadamente caracterizados. Los registros de enfermedades virales en plantas son más modernos, lo que en ningún modo implica que estos virus sean de origen más reciente.

La primera referencia escrita de una virosis de plantas figura en un poema japonés escrito por la emperatriz Koken en el año 752 a.C., y aparece en la antigua antología Man'yoshu. Fue una evocación lírica del follaje de la especie *Eupatorium lindleyanum*, que toma un amarillo marcadamente otoñal en medio del verano. Actualmente se conoce que la sintomatología descrita en el poema es causada por un begomovirus (*Tobacco leaf curl virus*).

CONCEPTO DE VIRUS

Los virus son parásitos intracelulares obligados, submicroscópicos, compuestos de ácido nucleico rodeado por una envoltura de proteína o lipoproteína. Carecen de vida independiente, pero se pueden replicar en el interior de células vivas, perjudicando en la mayoría de los casos a su hospedante en este proceso.

Para los años 1900-1930, se entendía por virus aquellas entidades submicroscópicas que producían enfermedades y que eran capaces de atravesar los filtros que retenían a todos los microorganismos conocidos hasta ese momento. Este carácter físico de la filtrabilidad llegó a ser durante casi 30 años el criterio de referencia para diferenciar estas enfermedades de las ya conocidas. Peter Brian Medawar, Premio Nobel en Medicina (1960), definió virus así: “Un virus es un trozo de ácido nucleico rodeado de malas noticias”, mientras que André Michael Lwoff, Premio Nobel en Medicina (1965), decía: “Los virus son virus”.

IMPORTANCIA

Los virus son los elementos genéticos más numerosos y diversos de la Tierra. Están en todas partes y son capaces de infectar cualquier tipo de organismo; ¡donde exista vida, hay virus! Causan enfermedades en el hombre, animales y plantas. Además, infectan bacterias, micoplasmas, hongos, insectos, algas, y se les ha encontrado asociados a nematodos y protozoarios.

Los virus causan numerosas enfermedades en las plantas cultivadas, algunas de las cuales tienen efectos económicos e incluso humanitarios muy importantes. Por otra parte, el estudio de las relaciones virus-planta a nivel celular y molecular ha permitido conocer los mecanismos de defensa de las plantas y comprender los mecanismos de patogénesis. Asimismo, el conocimiento de los mecanismos de replicación y expresión del genoma viral en plantas está permitiendo utilizar los virus como vectores para expresar en plantas proteínas de interés económico, controlar plagas y enfermedades mediante la expresión de

proteínas, anticuerpos, pequeñas moléculas de ARN o ARN pequeños de interferencia, así como silenciar genes endógenos de plantas.

Las enfermedades virales que afectan a las plantas pueden dañar las hojas, tallos, raíces, frutos, semillas o flores, y pueden causar pérdidas económicas, ya que reducen el rendimiento y la calidad de los productos vegetales. Las pérdidas pueden ser catastróficas o pueden ser leves e insignificantes. Estas enfermedades son de mayor importancia en plantas perennes, ya que la reducción del rendimiento es año tras año y porque el material tomado de esas plantas (yemas, esquejes, bulbos, rizomas) va a infectar a otras o dar origen a plantas enfermas. Otro factor importante es el costo y el tiempo necesario para llevar a la producción a las plantas perennes. En plantas anuales los daños son de mayor importancia si el cultivo es afectado cuando es joven.

La severidad de una enfermedad viral en particular puede variar con la localidad, el cultivar y de una estación a otra. Algunas enfermedades han destruido plantaciones enteras de ciertos cultivos en algunas áreas; por ejemplo: la hoja blanca del arroz, el amarillamiento de la remolacha azucarera y la tristeza de los cítricos. Sin embargo, muchas enfermedades virales ocurren año tras año en algunos cultivos en los cuales causan pérdidas leves o moderadas, algunas veces sin inducir algún tipo de síntoma visible.

Los tospovirus, entre los cuales se encuentra el virus de la marchitez manchada del tomate (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV), causan pérdidas de decenas de millones de dólares en el mundo. En EE.UU., durante un período de 10 años, generaron pérdidas que superaron los 1,4 billones de dólares. Los tospovirus afectan más de 1.000 especies de plantas.

En el sudeste asiático, la enfermedad tungro del arroz, causada por los virus *Rice tungro bacilliform virus* (RTBV) y *Rice tungro spherical virus* (RTSV), provoca una pérdida anual estimada de 1.500 millones de dólares en la producción de ese cereal.

En Brasil, en un período de 12 años, el virus de la tristeza de los cítricos (*Citrus tristeza virus*, CTV) destruyó 6 millones de árboles de naranjo dulce. En Venezuela, este virus ha causado la muerte de unos 5 millones de árboles de naranjo. En Argentina, el CTV causó la pérdida de más de 20 millones de plantas de cítricos (naranjo, pomelo y mandarino) en plena producción. En los últimos 50-60 años el CTV ha destruido 40-50 millones de árboles de cítricos en el ámbito mundial, generando pérdidas anuales de unos 22 millones de dólares.

En Ghana (África), en un período de 40 años, 200 millones de árboles de cacao (aprox.) infectados con el virus de la hinchazón del tallo del cacao (*Cacao swollen shoot virus*, CSSV) fueron erradicados para intentar detener la diseminación del virus, ocasionando pérdidas de miles de millones de dólares. Actualmente, el CSSV causa pérdidas anuales de 50.000 Mg de granos de cacao (aprox.), lo cual representa un valor estimado de 28 millones de dólares.

La yuca es el cultivo alimenticio más importante de África, y los niveles de infección de las virosis en este cultivo pueden llegar a 100 %, ocasionando una reducción significativa (40-85 %) en el peso de la raíz. El mosaico africano de la yuca (*African cassava mosaic virus*, ACMV) causa pérdidas anuales en África de 2.000 millones de dólares.

En papa, las virosis causan pérdidas que varían desde leves (5-10 %) hasta severas (80-95 %), dependiendo del virus, raza viral, variedad y condiciones ambientales. En EE.UU., el virus X de la papa (*Potato virus X*, PVX) causa una disminución del rendimiento de aproximadamente 10-15 %. En Argentina, el PVX, el virus Y de la papa (*Potato virus Y*, PVY) y el virus del enrollado foliar de la papa (*Potato leafroll virus*, PLRV), actuando en forma sinérgica, han provocado la pérdida casi total de algunas cosechas.

En América Central, en cultivares de maíz adaptados a esa región, han sido reportadas pérdidas de 40-50 % debidas a las virosis. En la misma región, se han originado pérdidas de hasta 100 % en siembras comerciales de genotipos de maíz introducidos o producidos recientemente. En Costa Rica y otras regiones tropicales, incidencias del virus del mosaico severo del frijol (*Cowpea severe mosaic virus*, CPSMV) de 16-100 % en siembras comerciales de frijol generan una reducción en el rendimiento de 50-90 %. En América del Sur, el virus de la hoja blanca del arroz (*Rice hoja blanca virus*, RHBV) ha causado pérdidas cuantiosas, y su incidencia en algunas zonas ha alcanzado hasta el 100 %.

En Venezuela, enfermedades virales como la mancha anillada de la lechosa, el mosaico de la caña de azúcar, la tristeza de los cítricos, el mosaico enanizante del maíz y varios begomovirus en tomate, entre otras, causan pérdidas considerables en los cultivos que afectan, pero no se dispone de cifras relativas a las pérdidas ocasionadas y la disminución del rendimiento. Actualmente tenemos una enfermedad viral emergente, la marchitez mancha del tomate, afectando solanáceas y ornamentales; sus consecuencias son impredecibles, ya que puede afectar numerosos hospedantes y ha causado pérdidas millonarias en todo el mundo.

Los ejemplos antes mencionados nos dan una idea de los daños que pueden causar las enfermedades virales en las plantas. Sólo los hongos superan a los virus como fitopatógenos.

Considerando el poder destructivo que tienen algunos virus y el uso de herramientas biotecnológicas, no podemos descartar que en algunos países haya programas sobre armas biológicas dirigidas contra los cultivos. La diseminación deliberada y sin control de un virus fitopatógeno para un cultivo de interés podría paralizar la economía de un país y poner en riesgo el suministro de alimentos a su población (bioterrorismo). Y es que los virus son admirables armas de destrucción masiva. Son la causa de frecuentes enfermedades con muy alto impacto económico y de muy difícil control, en buena parte por su enorme capacidad de diseminación y de adaptación evolutiva.

CARACTERÍSTICAS GENERALES

TAMAÑO

Los virus son entidades infecciosas extremadamente pequeñas. Por lo tanto, para la medición exacta de las partículas virales es necesario el uso del microscopio electrónico, el cual permite a su vez determinar su forma. Para medir los virus se utiliza como unidad de medida el nanómetro (1 nm = 10^{-9} m). Para que te hagas una idea, un milímetro equivale a un millón de nanómetros. La mayoría de los virus esféricos tiene unos 25-50 nm de diámetro, pero pueden alcanzar 70 nm en algunos miembros de la familia *Reoviridae* y hasta 120 nm en los virus membranosos de la familia *Bunyaviridae*. En el caso de los virus alargados la longitud del virión es de unos 300-500 nm, con un diámetro de 15-20 nm, aunque los hay de hasta 2000 nm, como en algunos miembros de la familia *Closteroviridae*. Los *Cucumovirus* y *Sobemovirus* miden unos 30 nm de diámetro; los *Tobamovirus*, 300-310 x 18 nm; y los *Potyvirus*, 650-900 x 13 nm.

FORMA

En general, la morfología de todos los virus patógenos de plantas se puede incluir dentro de tres formas, según la apariencia geométrica del virión: alargadas, isométricas (esféricas) y baciliformes. La forma del virión en las partículas alargadas puede ser rígida o flexuosa. Algunas variaciones de estas morfologías básicas ocurren en los virus que tienen dos cápsides isométricas unidas (*Geminivirus*) o los que presentan envoltura llamados también virus membranosos (*Tospovirus*). Otro caso son los llamados virus filiformes, pertenecientes a géneros como *Tenuivirus* y *Ophiovirus*, sin envoltura y con una simple nucleoproteína de 3-10 nm de diámetro y aspecto circular. Las partículas alargadas tienen simetría helicoidal (espiral) y la mayoría de las partículas isométricas tienen simetría icosaédrica.

ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN

Una partícula viral infecciosa está formada por un núcleo de ácido nucleico rodeado por una capa o cubierta de proteína o lipoproteína llamada cápside. El núcleo con su cápside de cubierta se llama nucleocápside. El ácido nucleico o genoma es la parte infectiva del virus; es el portador de la información genética y generalmente codifica tres o más proteínas. La cápside de muchos virus tiene un solo tipo de proteína, pero en algunos casos contiene hasta siete proteínas diferentes. Algunos virus de plantas tienen una segunda capa de proteínas, mientras que otros adquieren una membrana lipoproteica a partir de la célula huésped, formando una envoltura. A las subunidades de proteínas se les llama capsómeros y la partícula viral completa se le denomina virión.

Genoma. El genoma de los virus fitopatógenos está constituido por una o más moléculas lineales de ácido ribonucleico (ARN) o circulares de ácido desoxirribonucleico (ADN), y puede ser una cadena sencilla (cs) o doble (cd) de nucleótidos (ARN o ADN, nunca los dos juntos). Los virus que infectan a las plantas poseen en su gran mayoría ARN. La mayor parte de estos genomas están compuestos de ARN de cadena simple (ARNcs) que tienen la misma polaridad (sentido positivo) que las moléculas de ARN mensajero (ARNm) de la célula.

Convencionalmente, los ácidos nucleicos genómicos son considerados como de sentido positivo (+) si están constituidos por moléculas infectivas; es decir, pueden interactuar inmediatamente con los sistemas sintetizadores de la célula para ser replicados; o de sentido negativo (-), si están constituidos por moléculas complementarias no directamente infectantes, los cuales para poder expresarse en la célula del huésped deben ser antes transcritos en moléculas de sentido positivo (+). Con base en estas consideraciones, los virus de plantas presentan genomas de los tipos siguientes: ARNcs(+), ARNcs(-), ARNcd, ADNcs y ADNcd.

Los ácidos nucleicos virales, tanto de sentido positivo como de sentido negativo, poseen en un extremo una molécula de azúcar (ribosa o desoxirribosa) con un grupo -OH potencialmente libre sobre el átomo de carbono en posición «5» (terminación 5') y una molécula análoga de azúcar en el otro extremo, con un grupo -OH potencialmente libre sobre el átomo de carbono en posición «3» (terminación 3'). Por lo tanto, las terminaciones 5' y 3' constituyen la extremidad inicial y terminal de la molécula genómica. Sobre ellas están frecuentemente insertos grupos particulares [proteína genómica (VPg), cofia metil-guanosínica (Cap), secuencia poliadenilica (Poly A), estructura ARNt-semejante] que completan y estabilizan la estructura.

Entre las terminaciones 5' y 3' están comprendidas las rejillas de lectura (*open reading frames*, ORF) asimilables con los genes, cada una de las cuales codifica una proteína específica, a cuya producción está dedicada y cuyo número varía con relación a las dimensiones del genoma. Los genomas compuestos por una sola ORF se denominan monocistrónicos, mientras que los genomas con dos o más ORF se llaman bicistrónicos o policistrónicos, respectivamente. Cuando todas las ORF están contenidas en una sola molécula de ácido nucleico, el genoma es monopartido (*monopartite*) y si, por el contrario, se encuentran divididas entre dos o tres moléculas diferentes, el genoma se denomina bipartido o tripartido (*bipartite* o *tripartite*), respectivamente. En este último caso, generalmente las moléculas de ácido nucleico están encapsidadas en cubiertas proteicas separadas, aunque hay virus como el TSWV (*Orthotospovirus*) que tienen el genoma dividido, pero los componentes se encuentran envueltos en la misma cápside. En los virus con genoma fraccionado (virus multiparticulados), para que se produzca la infección, es necesaria la presencia simultánea en el interior de la célula huésped de todos los fragmentos en los que está subdividido. Algunos géneros que presentan el genoma dividido son: *Alfavirus*, *Bromovirus*, *Comovirus*, *Cucumovirus*, *Furovirus*, *Hordeivirus*, *Ilarvirus* y *Tobravirus*.

Proteínas. Las proteínas de origen viral tienen diferentes funciones. Las llamadas estructurales entran en la constitución de las partículas virales o viriones, formando la capa externa (proteína capsídica); otras, denominadas proteínas no estructurales, desarrollan funciones importantes en la replicación (polimerasas o replicasas virales, helicasas), en la escisión proteolítica de los polipéptidos (proteasas), en la difusión del virus en el

interior del hospedante (proteína del movimiento) y en determinar la transmisibilidad por parte de los vectores (factores coadyuvantes).

La función principal de la proteína de la cápside en los virus parece ser la de recubrimiento, protección y ayuda en todo el proceso biológico de los virus (coadyuvante de la infectividad del virus). Además, establece la especificidad antigénica del virus que le dio origen, lo cual tiene un papel importante desde el punto de vista práctico para el diagnóstico y reconocimiento de razas relacionadas (diferenciación serológica). Por otra parte, desempeña una función importante en la diseminación del virus por parte de los vectores biológicos. La proteína viral por sí sola carece de virulencia. En los virus esféricos las proteínas que forman la cápside representan normalmente un 40-60% del peso total de la nucleocápside, mientras que en los filamentosos o flexuosos constituyen aproximadamente el 95 % del peso total del virión, correspondiendo las diferencias al peso del ácido nucleico.

La síntesis de la proteína de la cápside no se aparta del mecanismo por el cual se forman las proteínas; es decir, la unión encadenada de cientos de moléculas de aminoácidos. El ácido nucleico, portador de la información genética, controla la síntesis de las proteínas y codifica la forma en que los distintos aminoácidos deben interconectarse en una cadena o polipéptido. A su vez, esta secuencia la determina los genes, los cuales dan a conocer, a través de mensajeros químicos específicos (ARNm), el orden en que deben ensamblarse los aminoácidos.

NIVEL DE PARASITISMO

Los virus son parásitos obligados intracelulares, ya que sólo pueden replicarse dentro de células del hospedante con metabolismo activo. El hecho de presentar un solo ácido nucleico, ARN o ADN, los incapacita para la síntesis de la materia orgánica a partir de los elementos que utilizan los organismos superiores. Los virus carecen de organelos (mitocondrias, aparato de Golgi, ribosomas); por lo tanto, son incapaces de hacer cualquier tipo de síntesis de energía o de proteína, lo que hace que sean completamente dependientes de células vivas para su replicación. Por lo tanto, están obligados a depender del equipo enzimático del potencial de síntesis de las células vivas que parasitan. Esta necesidad de una célula viva a la cual se asocian para autoduplicarse y expresar su forma de vida, tiene una consecuencia práctica inmediata: la imposibilidad de cultivarlos en los medios bacteriológicos usuales o fuera de la célula viva. Es decir, la autorreplicación de los virus con continuidad genética sólo ocurre en el seno de la célula viva y fuera de ella se reducen a macromoléculas inertes.

El tiempo de supervivencia de los virus fuera de la materia viva, en general, es muy limitado. No obstante, existen muchos virus que presentan una alta estabilidad en medios externos. Fuera de la célula viva, los virus transmisibles por inoculación mecánica se comportan, en cierta forma, como muchos microorganismos: son

sensibles a la acción de determinados compuestos químicos, enzimas, radiaciones y altas temperaturas.

PENETRACIÓN

Dado que los virus de plantas son parásitos biotróficos obligados, sus ciclos de replicación comienzan con la penetración del virión a la célula. En general, los virus fitopatógenos no tienen aptitudes para penetrar por sus propios medios en las células de las plantas susceptibles, ya que para ellos no existen receptores de membrana ni procesos de endocitosis, dada la presencia de fuertes cutículas y paredes celulares en sus hospedantes. Por lo tanto, la vía más importante para su propagación la proporcionan los vectores biológicos que se alimentan de ellas. Otra forma de penetración es por abrasión mecánica (ruptura) de las células epidérmicas de hojas y tallos, y también, naturalmente, por injerto de tejidos de plantas infectadas a plantas sanas.

REPLICACIÓN

Los virus no se reproducen como las bacterias, los hongos u otros microorganismos sino por replicación de sus ácidos nucleicos. No tienen ningún tipo de organización reproductora y no pueden multiplicarse en forma independiente. La multiplicación es intracelular y ella se encuentra vinculada estrechamente con tejidos de activa multiplicación celular. Los virus no se comportan como organismos autónomos dentro de la célula, pues, es indispensable que los componentes de ambos se integren para la multiplicación de aquellos y, tan pronto como se establece esta integración, toda la célula debe ser considerada como una simple unidad productora de virus.

Un esquema general del ciclo infectivo de los virus de plantas se puede resumir así: a) ingreso del virus a la célula hospedante susceptible; b) desensamblaje del virión; c) síntesis de ARNm o uso del genoma como ARNm (ej. en virus con ARNcs+); d) traducción de proteínas virales (tempranas y tardías según del momento en que se producen en el ciclo de infección); e) replicación del genoma viral; f) ensamblaje de los nuevos viriones; g) movimiento de virus a células adyacentes; h) movimiento sistémico del virus en la planta; i) transmisión vertical y horizontal del virus.

Como en cualquier otro organismo, la información para la replicación de los virus está contenida dentro de sus genomas. La capacidad del ácido nucleico viral para auto-duplicarse y sintetizar sus proteínas de recubrimiento (cápside) sólo ocurre en las células del hospedante con el cual debe tener afinidades específicas. Un virus inoculado en una célula carente de esa especificidad no se podrá multiplicar. Dado que los virus de plantas son parásitos intracelulares obligados, sus ciclos de replicación comienzan con la penetración del virión a la célula. El paso siguiente en la infección viral es la remoción parcial o total de la cápside del virión en el citoplasma. Luego, la célula interviene en la expresión del genoma viral suministrando un aparato de transcripción (para los virus de ADN) y un aparato de traducción (para todos los virus). Los virus de ADN deben ser transportados al núcleo para la transcripción y de esta manera

tener acceso a las proteínas celulares necesarias para la producción de ARNm a partir de ADN viral. La traducción de ARN viral en el citoplasma produce proteínas virales que son necesarias para completar el ciclo de replicación viral.

Todos los virus deben formar al menos tres tipos de proteínas: a) proteínas de replicación, esenciales para la producción de ácidos nucleicos; b) proteínas estructurales, que conforman la cubierta proteica y otros componentes de los viriones; y c) proteínas de movimiento, que sirven de intermediarias en el transporte de los virus entre las células vegetales. Las proteínas de replicación viral se combinan con las proteínas celulares para producir un complejo de proteínas que fabrican múltiples copias del genoma viral, manteniendo las características genéticas del ácido nucleico que le dio origen. Estos nuevos genomas interactúan con las proteínas estructurales para formar nuevos viriones.

La descripción siguiente ilustra los pasos que se dan dentro de la célula hospedante durante la replicación del TMV. El virus ingresa a una célula vegetal. A medida que la cápside se desprende del ARN, los ribosomas del hospedante comienzan la traducción de dos proteínas asociadas a replicasas, las cuales se usan para generar un patrón de ARN de sentido negativo (-) a partir del ARN viral de sentido positivo (+). Este ARN de sentido negativo (-) es, a su vez, usado para generar tanto ARN del TMV de cadena completa de sentido positivo (+) como ARN subgenómico (ARNsg) de sentido positivo (+), que es usado para la expresión de las proteínas de movimiento y de la cápside. Los ARN del TMV de sentido positivo (+) son encapsidados para formar nuevas partículas de TMV o envueltos por la proteína de movimiento para permitir que se muevan a una célula adyacente y así iniciar un nuevo ciclo de replicación.

En el caso de los virus de ARN, la replicación se lleva a cabo, generalmente, en el citoplasma de las células infectadas, asistida por la ARN polimerasa dependiente del ARN viral. Algunos virus de ARN utilizan ARNcs (-) y algunos otros tienen genomas compuestos de ADNcd. Debido a la enorme variabilidad en la naturaleza del material genético de los virus, los ciclos replicativos de diferentes virus son frecuentemente muy distintos entre sí. Los virus que contienen ARN son sistemas replicativos únicos, ya que el ARN se autoduplica sin la intervención del ADN. En algunos casos, el ARN viral funciona como ARN mensajero, y se replica en forma indirecta utilizando el sistema ribosomal y los precursores metabólicos de la célula huésped.

ARNcs(+): Funciona como un ARNm para la síntesis directa de las proteínas virales. Este tipo de genoma es el que tiene la mayoría de los virus fitopatógenos (65 %). La replicación de este tipo de virus ocurre en el citoplasma de las células infectadas, casi siempre en estrecha asociación con sistemas membranosos, aparentemente específicos para cada grupo de virus (ej. retículo endoplasmático, mitocondrias, vacuolas, membrana externa del cloroplasto). En estos virus ocurre la síntesis de la cadena negativa a partir del ARNcs(+) genómico, de tal manera que la cadena recién formada [ARNcs(-)] sirve de

molde para las nuevas copias de ARNcs(+). En muchos virus de plantas, la cadena de ARNcs(-) también se utiliza como base para la síntesis de ARNsg. Durante el proceso de replicación de los virus con este tipo de genoma se presentan tanto formas replicativas como intermediarios replicativos. Las primeras las constituyen dúplex de ARN(+/-) como resultado de la síntesis inicial de las cadenas negativas, mientras que las últimas se componen de un molde de ARNcs(-) unido a diferentes cadenas de ARNcs(+). Algunos ejemplos de familias y géneros con este tipo de genoma son: *Bromoviridae* (*Bromovirus*, *Cucumovirus*), *Potyviridae* (*Potyvirus*, *Bymovirus*), *Secoviridae* (*Comovirus*, *Nepovirus*), *Closteroviridae* (*Closterovirus*, *Crinivirus*) y *Virgaviridae* (*Tobamovirus*, *Tobravirus*).

ARNcs(-): Mediante una enzima codificada por el ARN complementario al genoma viral (ARN polimerasa dependiente del ARN), presente en el virión, transcribe el ARN genómico a ARNm. La replicación en estos virus ocurre a partir de un molde de ARNcs(+), el cual se sintetiza previamente a partir del genoma de ARNcs(-). Generalmente, los genomas de estos virus poseen secuencias complementarias en sus extremos, que dan origen a estructuras pseudocirculares, fundamentales para la replicación y expresión de sus proteínas. Algunos de estos virus también se pueden replicar en las células de sus insectos vectores. En el caso de los rhabdovirus de plantas, la replicación ocurre en viroplasma ubicados en el citoplasma (*Cytorhabdovirus*) o en el núcleo (*Nucleorhabdovirus*). Este tipo de genoma lo tienen virus de plantas que se ubican en las familias *Rhabdoviridae* (*Nucleorhabdovirus*, *Cytorhabdovirus*) y *Ophioviridae* (*Ophiovirus*). Un caso particular es el de los miembros del género *Orthotospovirus* (Familia *Tospoviridae*), cuyo ARN genómico funciona en ambos sentidos (*ambisense*), positivo y negativo [ARNcs(+/-)].

ARNcd: En este caso, la polimerasa viral sintetiza ARNm a partir de una de las dos cadenas de ARN. Los ARNm son liberados al citoplasma para su traducción y, cuando se ha generado una alta cantidad de proteínas virales, las copias completas de ARNcs(+) son empacadas en partículas subvirales (*inner core*), para continuar con el ensamblaje de los viriones; así se da comienzo a la síntesis de las cadenas negativas que reconstituirán los genomas de ARNcd. Se presenta en virus de plantas de las familias *Reoviridae* (*Fijivirus*, *Phytoreovirus*), *Partitiviridae* (*Alphapartitivirus*), *Amalgaviridae* (*Amalgavirus*) y *Endornaviridae* (*Alphaendornavirus*).

ADNcs: La replicación de los virus de ADNcs ocurre en el núcleo, utilizando la maquinaria celular de síntesis de ADN del huésped. Emplea un mecanismo de círculo rodante, en el que, a partir de un molde de ADNcd, se generan múltiples copias continuas de ADNcs, por acción de una ADN polimerasa del hospedante con dominio de proteínas de control del virus. En el inicio de la replicación requieren las enzimas del huésped para la formación de una forma replicativa de ADNcd. Ésta servirá de molde para la transcripción y para la generación de nuevas copias del genoma viral (ADNcs). Este tipo de genoma se encuentra en miembros de las

familias *Geminiviridae* (*Begomovirus*, *Mastrevirus*) y *Nanoviridae* (*Babuvirus*, *Nanovirus*). En los geminivirus la transcripción del ADNcd es bidireccional (*ambisense*).

ADNcd: Los virus de ADNcd de plantas utilizan como mecanismo de replicación la retrotranscripción. Entonces, la replicación de tales virus ocurre por la vía ADN → ARN → ADN; es decir, requieren de un ARN intermedio y, por tanto, son denominados pararetrovirus o virus de ADN bicatenario retrotranscritos. La replicación presenta una fase nuclear, donde se lleva a cabo la transcripción viral por la ARN polimerasa del huésped, y otra citoplasmática, en la que se producen nuevas moléculas de ADNcd mediante transcripción inversa, por una ADN polimerasa dependiente de RNA viral (retro-transcriptasa). Esta enzima también tiene actividad de ADN polimerasa y de ribonucleasa H, que permite la remoción del ARN en el híbrido replicativo ARN:ADN, lo que induce a la síntesis de la segunda cadena de ADN (ADNc). Está presente en miembros de la familia *Caulimoviridae* (*Caulimovirus*, *Badnavirus*, *Tungrovirus*).

El sitio o sitios de la célula en el cual el ácido nucleico y la proteína viral son sintetizados y en el cual esos dos componentes son ensamblados para formar los viriones varían con cada género viral en particular. Para la mayoría de los virus de plantas [ARNcs(+)], después que el ácido nucleico es liberado de la capa proteica, se replica en el citoplasma, donde también sirve como ARN mensajero y, en cooperación con los ribosomas y el ARN de transferencia, produce las subunidades proteicas del virus. El ensamblaje de los viriones también ocurre en el citoplasma. En los virus que contienen ADNcs la síntesis del ácido nucleico viral ocurre en el núcleo, mientras que en los virus de ADNcd la replicación presenta una fase nuclear y otra citoplasmática.

El primer virión intacto aparece en las células de la planta aproximadamente a las 10 horas después de la inoculación. Las partículas virales pueden existir aisladas o en grupos y pueden formar cuerpos de inclusión amorfos o cristalinos en el citoplasma o en el núcleo de la célula.

Para producir infección por el método común de inoculación mecánica se requiere alrededor de un millón de partículas del TMV. Esto no tiene mayor significación, ya que es el número de partículas que existe en una célula infectada con este virus. El TMV puede representar hasta el 10% del peso seco de la planta. En el caso de plantas infectadas con virus que inducen síntomas tipo mosaico, se ha estimado que contienen entre 100.000 y 10.000.000 partículas virales por célula.

MOVIMIENTO Y DISTRIBUCIÓN DE LOS VIRUS EN LA PLANTA

El ciclo infectivo de un virus en una planta hospedante susceptible se inicia, en la mayoría de los casos, con la entrada del virus en las células de la epidermis o del floema o a través de la raíz, como consecuencia de daño mecánico o mediante vectores biológicos. Para que ocurra una infección sistémica de la planta, la progenie de los virus, una vez completado los primeros ciclos de replicación del genoma viral, debe ser capaz de

desplazarse desde los sitios de replicación a la periferia de la célula, para luego infectar las células vecinas hasta alcanzar el sistema vascular, a través del cual podrá invadir las partes distales de la planta. Por tanto, en la invasión sistémica de una planta pueden considerarse tres etapas bien diferenciadas: el movimiento intracelular, el movimiento intercelular y el movimiento vascular. La restricción a algunos de estos tipos de movimiento es una de las principales respuestas que las plantas han desarrollado para defenderse de los virus.

El movimiento intracelular de los virus está asociado a interacciones de determinados componentes virales con los microtúbulos, los microfilamentos de actina y/o el sistema de endomembranas. Los virus de plantas utilizan activamente estas estructuras para controlar su dinámica intracelular; es decir, el movimiento desde los sitios de replicación hasta la periferia de la célula.

La vía por la cual los virus se desplazan de célula a célula la constituyen los plasmodesmos, que son estructuras tubulares de unos 30-50 nm de diámetro que unen las células adyacentes a través de las paredes celulares. Este diámetro es menor que la medida de algunos virus. Por lo tanto, para que el movimiento del virus célula a célula ocurra, el diámetro de los plasmodesmos debe incrementarse, y este proceso es facilitado por las proteínas de movimiento codificadas por los virus. Asimismo, estas proteínas tienen la habilidad de unirse al ácido nucleico y transportarlo de célula a célula. Es importante destacar que para muchos virus las proteínas de movimiento no son el único producto viral envuelto en el movimiento de célula a célula. Algunos virus se mueven entre células adyacentes como ácido nucleico (tobamovirus) y otros como partículas virales o viriones (nepovirus).

El transporte de los virus a larga distancia ocurre por el tejido vascular de la planta, usualmente por el floema (tubos cribosos), ya que muy pocos virus lo hacen a través del xilema. Los virus de distribución general (tipo mosaico) pueden iniciar la infección con sólo lograr acceso a las células de la epidermis; de éstas pasan al mesófilo de la hoja, por el cual se extienden lentamente. Una vez que alcanzan el floema son transportados rápidamente a otras partes de la hoja, al tallo y de ahí a toda la planta, pero primordialmente a los órganos en desarrollo, que son los que están utilizando gran parte de los nutrientes transportados en el floema. Los virus limitados al floema no pueden iniciar su infección en cualquier tejido, sino que necesitan ser inyectados en los elementos del floema. La distribución desde el sitio de penetración hacia el resto de la planta es relativamente rápida y, como en el caso anterior, ha sido correlacionada con el movimiento de nutrientes en este tejido.

La mayoría de los virus requiere de la cápside para el transporte a largas distancias, pero algunos como el *Barley stripe mosaic virus* son capaces de moverse largas distancias sin la capa proteica. En estos casos, la protección al ácido nucleico la proporcionaría la proteína de movimiento. En algunos géneros virales hay otras proteínas codificadas por los virus que intervienen en el movimiento dentro de la planta infectada, como son las

del triple bloque (TBG) de los potexvirus y carlavirus, o la CP, HC-Pro, CI y VpG de los potyvirus.

En el caso de los virus que difunden de las células del mesófilo hasta el floema, por el que se desplazan, para luego volver a introducirse en las células en otras partes de la planta, y también en aquellos que son inoculados por sus vectores en los tejidos vasculares (floema y/o xilema), más de un mecanismo debe ser requerido para estos movimientos. Se deduce de lo expuesto que el movimiento de los virus dentro de las plantas es complejo y que forma parte de un proceso integrado por ambas partes y varía con el virus y con la planta.

La mayoría de las infecciones virales se inician en las hojas, por ser estos órganos los más accesibles a los agentes transmisores. Hay casos en que los virus no invaden más que unas pocas células (lesiones locales), como respuesta de los mecanismos de defensa del hospedante (infección subliminal), pero por lo general los virus se diseminan pronto a otras partes de la planta, en especial si ésta es joven y vigorosa; es decir, la infección se torna sistémica. El desarrollo de lesiones locales ha sido considerado como un indicio de la localización del virus dentro del área de la lesión. Aunque esto es probablemente cierto, en algunos casos; en otros, el virus "escapa" de las lesiones y se disemina sistémicamente. En infecciones virales sistémicas, algunos virus transportados por el floema parecen estar limitados a este tejido vascular y a unas pocas células del parénquima adyacente. En el caso de virus que causan enfermedades tipo mosaico, no están restringidos a un tipo de tejido y pueden tener diferentes patrones de localización.

MECANISMOS DE TRANSMISIÓN

La mayoría de las plantas tienen una pared celular rígida y, por consiguiente, los virus son introducidos en el citoplasma de la célula del huésped por un proceso traumático, generalmente por medio de vectores o por lesiones que ocurren con los implementos de trabajo o entre las mismas plantas (rozaduras). Los virus que causan enfermedades en cultivos de interés agrícola generalmente dependen de vectores bióticos (organismos vivos) para la transmisión y la supervivencia.

La clase más amplia de vectores transmisores de virus fitopatógenos son los insectos, aunque otros vectores también pueden contribuir a su diseminación. La transmisión de los virus a través de un vector es un proceso sumamente específico. Cada virus puede transmitirse solamente por un tipo de vector (por ejemplo, áfido) y no por otro (por ejemplo, mosca blanca). Contrariamente, cada especie de vector puede transmitir algunos virus pero no otros, a pesar de que sean virus genéticamente muy similares entre sí.

Los medios de transmisión de un virus determinan su capacidad de diseminación y, por tanto, los posibles medios de control. Además, constituye uno de los criterios para su identificación. Los virus fitopatógenos son transmitidos de planta a planta a través de semilla, polen, propagación vegetativa, cúscura, insectos, ácaros, hongos, nematodos, mecánicamente y por contacto.

Transmisión por semilla y polen. Algunos virus son transmitidos por la semilla de plantas infectadas (transmisión vertical). El virus puede ir en la cutícula, en el endospermo o en el embrión. No todas las semillas de plantas infectadas son portadoras de virus. El porcentaje de semillas que da origen a plantas infectadas varía de 1 a 50%, aproximadamente. El mosaico común de la caraota, la mancha anillada del tabaco, el mosaico del pepino y el mosaico de la lechuga se transmiten por esta vía. La transmisión a través de la polinización de plantas sanas con polen de plantas enfermas es rara y ocurre sólo con unos pocos virus. Los cryptovirus son transmitidos eficientemente por polen y semilla, pero no se transmiten mecánicamente o por vectores. No causan síntomas visibles y ocurren en muy baja concentración en las plantas infectadas.

Propagación vegetativa. En plantas propagadas vegetativamente es muy importante la transmisión de virus en material de siembra. La gran mayoría de ellos son sistémicos y van en cualquier órgano que se utilice como medio de propagación (yemas, estolones, tubérculos, estacas, rizomas, bulbos) y que haya sido tomado de plantas enfermas. En cultivos como papa, caña de azúcar, yuca, fresa, batata y muchos frutales y ornamentales es corriente la acumulación progresiva de virus en material clonal a través de varias generaciones.

La transmisión por injerto ha sido utilizada como medio universal de transmisión de virus, ya que casi todos los virus pueden ser transmitidos por injerto. Algunos virus cuyos vectores no son aún conocidos, han sido transmitidos sólo por injerto. No es necesario que el tejido injertado crezca para que se efectúe la transmisión; es suficiente con que se establezca la unión entre el tejido infectado y el tejido sano de la planta en prueba.

Algunos ejemplos de enfermedades virales transmitidas por propagación vegetativa son: rayado del banano, mosaico de la caña de azúcar, tristeza de los cítricos, clorosis infecciosa del banano, virus X de la papa, mosaico común de la yuca, mosaico de la rosa, moteado plumoso de la batata, moteado amarillo de la canna.

Transmisión por cúscura. Algunos virus pueden transmitirse a través de una planta parásita del género *Cuscuta* (familia *Convolvulaceae*), la cual es una enredadera y no posee hojas ni clorofila. En este tipo de transmisión, el procedimiento usual es hacer crecer la cúscura parasitando plantas con síntomas virales y cuando se forman nuevos tallos, se colocan las plantas de prueba junto a la infectada para permitir que la cúscura las parasite también. Así se forma un puente de tejido vivo a través del cual pueden pasar los virus. Dentro de la cúscura los virus pueden multiplicarse o moverse pasivamente. Generalmente esta planta se usa para transmitir virus que no pueden ser transmitidos mecánicamente o por vectores, y en aquellos casos donde falla la técnica de injertar.

Transmisión por insectos. En la naturaleza la mayoría de los virus que afectan a las plantas son transmitidos por insectos. Los hemípteros son los vectores de virus de plantas más importantes, y comprenden más del 70% de todos los insectos vectores de virus. En este

grupo se encuentran los áfidos (Aphididae), moscas blancas (Aleyrodidae), saltahojas (Cicadellidae), saltapuntas (Delphacidae) y otros hemípteros (chinchas harinosos o escamas). Las características del aparato bucal (estilete) de los hemípteros los hace eficientes transmisores de virus. Los áfidos, las moscas blancas y los cicadélidos son los principales vectores de virus fitopatógenos, transmitiendo más de 500 especies virales. Otros grupos de insectos importantes como vectores son los trips (Thysanoptera) y los coleópteros (Coleoptera).

A continuación se mencionan algunos ejemplos de enfermedades virales transmitidas por insectos de importancia en Venezuela y/o en el mundo:

Áfidos: mosaico enanizante del maíz, mosaico de la caña de azúcar, mancha anillada de la lechosa, tristeza de los cítricos, virus Y de la papa, mosaico del pepino.

Moscas blancas: mosaico amarillo del tomate, mosaico dorado de la caraota, mosaico amarillo de la soja, hoja rizada del algodón, mosaico amarillo de la Euphorbia, moteado suave del frijol.

Saltahojas y saltapuntas: mosaico del maíz (enanismo rayado), hoja blanca del arroz, enanismo clorótico del maíz, copa racimosa de la lechosa, rayado del maíz (hoja blanca).

Trips: marchitez manchada del tomate, clorosis letal del calabacín, manchado clorótico del tomate, mancha amarilla del maní, mancha necrótica de la Impatiens, necrosis de las yemas de la patilla.

Coleópteros: moteado clorótico del frijol, mosaico del frijol, mosaico de la calabaza, mosaico sureño de la caraota, moteado clorótico del maíz, mosaico severo del frijol.

Chinchas harinosos: hinchazón del tallo del cacao, rayado del banano, mosaico amarillo de los cítricos, virus baciliforme de la caña de azúcar.

Transmisión por ácaros. Los ácaros están estrechamente relacionados con las arañas y las garrapatas. Los ácaros eriófidos (*Eriophyidae*), los ácaros planos (*Tenuipalpidae*) y las arañitas rojas (*Tetranychidae*) constituyen un pequeño grupo de vectores de unos pocos virus. Tienen un aparato bucal en forma de estilete, parecido a una aguja, con el cual pueden perforar la superficie de las células, induciendo deformaciones foliares. Los eriófidos son vectores de enfermedades virales importantes en cereales, las cuales son transmitidas de forma circulativa no propagativa. La retención viral en el vector varía entre los 6 y 10 días, persistiendo el virus en el vector tras la muda y sin transmisión vertical. Algunos ejemplos de enfermedades virales transmitidas por ácaros son: leprosis de los cítricos, mosaico estriado del trigo, mosaico de la cebolla, mosaico estriado amarillo de la cebada, mosaico del agropyron y mosaico manchado del trigo. *Brevipalpus ovoides* (*Tenuipalpidae*) es vector del virus de la leprosis de los cítricos (*Citrus leprosis virus*, CLV).

Transmisión mecánica. Se entiende por transmisión mecánica la que se produce frotando la savia de una planta enferma en la epidermis de una planta sana. En el laboratorio, este tipo de transmisión es la más frecuente,

por ser la más fácil de ejecutar. En general, el procedimiento consiste en macerar tejidos infectados en una solución buffer, filtrar o clarificar el jugo obtenido, y frotarlo suavemente sobre las hojas de una planta sana, generalmente con ayuda de un abrasivo fino (ej. Carborundo). Las hojas inoculadas se pueden enjuagar con agua y se colocan las plantas sobre un mesón en el ambiente más apropiado para esperar el desarrollo de los síntomas.

Transmisión por contacto (sin vectores). Sólo un número reducido de virus es diseminado en la naturaleza por contacto. Estos virus alcanzan concentraciones muy altas en los tejidos epidermales y son bastantes estables fuera de la célula; basta el roce de hojas enfermas con hojas sanas sucesivamente para que haya transmisión. El TMV y el PVX son ejemplos de virus transmitidos por esta vía y no se les conoce vectores.

INTERACCIÓN VIRUS-VECTOR

Las partículas virales, pero no sus ácidos nucleicos desnudos, son las unidades patógenas que son transmitidas por los insectos para iniciar la infección. Sin embargo, los ácidos nucleicos virales (ADN o ARN) son suficientes para causar infección cuando se introducen en las células vegetales por medios artificiales (frotamiento, bombardeo, agro-infección, etc.). Esto sugiere que las moléculas de proteína que encapsidan el ácido nucleico son necesarias para interactuar con sitios específicos presentes en el vector.

Los virus de plantas se pueden clasificar según la persistencia o capacidad de retención del virus en el vector en no persistente, semipersistente y persistente, por lo que el periodo de transmisión para diseminar el virus a una nueva planta huésped después de alimentarse el vector en una planta infectada dura de segundos a minutos, horas a días o días a semanas, respectivamente. Estos tipos de interacción virus-vector generalmente ocurren en áfidos, moscas blancas, saltahojas y trips.

Otra clasificación los divide en circulativos y no circulativos. Los virus de transmisión no circulativa están asociados a la cutícula y no pueden atravesar las barreras del sistema digestivo del insecto. Los virus circulativos traspasan las barreras del sistema digestivo del vector, llegan a la hemolinfa y se acumulan en el interior de las glándulas salivales. Estos virus pueden ser propagativos (se replican en el vector) o no propagativos (no se replican en el vector). Los virus de transmisión no circulativa suelen englobar a los virus de transmisión no persistente y semipersistente, mientras que los de transmisión circulativa incluyen a los persistentes.

Transmisión no persistente. Los virus de plantas no persistentes se mantienen en el estilete del insecto y se caracterizan por tener períodos muy cortos para la adquisición y retención del virus. Todos los virus de transmisión no persistente descritos hasta ahora tienen como vector exclusivamente áfidos. El virus se asocia con el estilete del áfido donde es retenido durante unos minutos e inoculado posteriormente. La adquisición y la inoculación se producen durante las breves inserciones de prueba que realiza el áfido sobre la planta para comprobar

si es un huésped apropiado. El virus es retenido en el aparato bucal del áfido, en la región del estilete donde se unen el canal alimenticio y el salival. La eficiencia del proceso de transmisión disminuye cuando el tiempo de adquisición aumenta. Además, el rendimiento es mayor si los áfidos se someten a un ayuno previo. Por otra parte, tienen poca especificidad virus-vector, existiendo muchas especies capaces de transmitirlos.

En este modo de transmisión no persistente existen dos mecanismos bien diferenciados de transmisión. Un primer caso, es el de aquellos virus en los que es necesaria la presencia de proteínas de origen viral no estructurales también denominadas factores ayudantes de la transmisión (*helper component* o *helper factor*); y un segundo caso, es el de los virus en los que únicamente son necesarios los componentes estructurales del virión o proteínas de la cápside. Así tenemos dos estrategias bien diferenciadas que se denominan estrategia del *helper* y estrategia de la cápside.

Transmisión semipersistente. Los virus semipersistentes son retenidos en el intestino anterior del insecto y se ubican en las áreas revestidas por quitina, pero al parecer no penetran en los tejidos del vector. Es decir, no atraviesan barreras hematoencefálicas a diferencia de los virus de transmisión persistente. Este tipo de transmisión se distingue por tener periodos de adquisición e inoculación más largos que la no persistente, pudiendo mantenerse la capacidad virulífera del vector durante horas e incluso días. Este tipo de transmisión combina características intermedias entre los tipos de transmisión no persistente y persistente, siendo más frecuente entre los virus transmitidos por coleópteros, mosca blanca, ácaros y nematodos.

Los virus de transmisión semipersistente mejor caracterizados son especies de los géneros *Caulimovirus* y *Closterovirus*. La adquisición del virus se produce en el floema, y el vector requiere de cierto tiempo para alcanzar este tejido, lo que explica que a mayores tiempos para la adquisición, mayor sea la eficacia del proceso. La adquisición de los virus semipersistentes desde la planta huésped y la retención en el insecto vector implican mecanismos mediados en gran parte por la cápside viral. Sin embargo, en otros casos, estos procesos son ayudados por proteínas no capsídicas. Unos pocos virus son transmitidos de dos formas: no persistente y semipersistente (transmisión bimodal).

Transmisión persistente. Los virus persistentes son absorbidos y retenidos por los tejidos del insecto y se caracterizan por la invasión de las glándulas salivales. Estos virus deben escapar del intestino del insecto y diseminarse a los órganos vecinos para llegar a las glándulas salivales para su transmisión. Por lo tanto, requieren de un período de latencia dentro de su vector.

Los virus persistentes se pueden dividir en circulativos-no propagativos y circulativos-propagativos. En el caso de la transmisión circulativa no propagativa (Ej. *Luteoviridae*, *Geminiviridae* y *Nanoviridae*), el virus no es capaz de replicarse en las células del vector durante su transporte. Los virus de transmisión circulativa-propagativa (Ej. *Tospoviridae*, *Reoviridae*, *Rhabdoviridae*)

se multiplican en las células del insecto durante su circulación, actuando como un organismo parásito tanto en la planta huésped como en el insecto vector, pudiendo en ocasiones llegar a infectar a la progenie del insecto transováricamente. Algunos de estos virus causan efectos deletéreos al vector. La transmisión de tipo persistente es característica de muchos virus transmitidos por áfidos, mosca blanca, trips y cicadélidos.

La mayoría de los virus transmitidos de manera persistente están restringidos al floema en su planta huésped, son transmitidos por artrópodos y el virus atraviesa la barrera hematoencefálica del insecto. Los virus alcanzan las glándulas salivales por la vía de la hemolinfa o por otras rutas tales como el tejido nervioso (ruta neurotrópica) o mediante tejidos conectivos. Esta actividad involucra interacciones complejas entre los virus transmitidos y sus insectos vectores, y la especificidad de las interacciones virus-vector está determinada principalmente por la cápside viral (proteínas y glicoproteínas), así como por algunas proteínas no estructurales.

Varios estudios han demostrado que algunas proteínas de los insectos vectores están envueltas en la circulación y la transmisión de los virus. Asimismo, ciertas proteínas (GroEL) expresadas por bacterias endosimbióticas (*Buchnera*, *Hamiltonella*), que residen en el insecto vector, interactúan en la hemolinfa con el virus e influyen su transmisión. Esta interacción se traduce en protección al virus e incremento en la probabilidad de ser transmitido, ya que en la hemolinfa el virus está expuesto al ataque por parte del sistema inmune del vector. Estas bacterias residen en la hemolinfa dentro de órganos especializados llamados bacteriomas. Este tipo de proteínas GroEL están implicadas en la transmisión del virus del enrollamiento foliar de la papa (PLRV) por el áfido *Myzus persicae*, y en la transmisión del virus del encrespamiento foliar amarillo del tomate (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV) por la mosca blanca *Bemisia tabaci*. Ambos casos de transmisión son del tipo circulativo no-propagativo.

En el caso de los tospovirus, las partículas virales penetran las células epiteliales del intestino medio del vector donde se multiplican; luego, migran a las células musculares que rodean el intestino, y de allí a las glándulas salivales. Los viriones no han sido observados en el hemocele de los trips infectados. Una vez que el insecto es infectado, el virus persiste durante todo su ciclo de vida.

El mayor determinante de la transmisión de los tospovirus por trips son las glicoproteínas virales que se proyectan desde la superficie del virión. A diferencia de los tospovirus, los reovirus utilizan la ruta de la hemolinfa para llegar a las glándulas salivales. Asimismo, utilizan túbulos para moverse célula a célula en el intestino medio y otros usan la estructura tubular para atravesar la lámina basal.

Otro aspecto importante en el ciclo de transmisión de los tospovirus por trips es que la adquisición ocurre solamente durante los estados larvales; posteriormente, el virus es transferido en forma transtadial a los adultos. Es

decir, solo los trips adultos (hembras y machos) que adquirieron el virus durante sus estados larvales son los que pueden transmitirlo.

Transmisión por coleópteros

La transmisión de virus fitopatógenos por coleópteros es un proceso muy específico y biológicamente complejo, y no simplemente un problema de contaminación de las partes bucales del vector. Los coleópteros pueden tornarse infectivos después de un período de alimentación de pocos minutos, y la eficiencia de transmisión se incrementa con largos períodos de adquisición. La retención del virus en el vector es muy variable, y depende del virus, vector, hospedante y condiciones ambientales. El virus no se multiplica en el vector y no hay período de latencia. Estos virus alcanzan una alta concentración en los tejidos infectados, son relativamente estables, tienen partículas poliédricas de 25-30 nm de diámetro, contienen ARN de cadena sencilla, son transmitidos fácilmente por inoculación mecánica y tienen una alta antigénicidad.

Las especies de virus transmitidas por coleópteros pertenecen a los géneros *Bromovirus*, *Carmovirus*, *Comovirus*, *Machlomovirus*, *Sobemovirus* y *Tymovirus*, mientras que las especies de coleópteros vectores se ubican en las familias Chrysomelidae, Curculionidae, Coccinellidae y Meloidae. La habilidad de los coleópteros para transmitir virus fitopatógenos está relacionada con la regurgitación de los virus desde el intestino durante la alimentación. La presencia de ribonucleasa (RNasa) en los regurgitados es el factor responsable de la especificidad de la transmisión, ya que inactiva los virus no transmisibles por coleópteros. Por otra parte, el reconocimiento que ocurre para que el virus sea transmitido de manera eficiente por un coleóptero vector está mediado por las propiedades de la cápside, tal como ocurre en otros grupos de insectos vectores. No se ha establecido una correlación entre la presencia de viriones en la hemolinfa y la transmisión exitosa del virus, lo cual impide una posible comparación con las transmisiones del tipo circulativa y no circulativa. Sin embargo, algunos autores consideran que, por el hecho de los coleópteros adquirir de forma rápida los virus y no presentar un período de latencia, la transmisión podría ser del tipo semipersistente (no circulativa).

Transmisión por nematodos

Los nematodos pueden ingerir y llevar internamente varios virus de plantas, pero solo pueden transmitir algunos de ellos a plantas sanas, lo cual sugiere que existe una estrecha relación biológica, altamente específica, entre los nematodos vectores y los virus que ellos pueden transmitir. Algunas especies de nematodos ectoparásitos pertenecientes a los géneros *Xiphinema*, *Longidorus*, *Paralongidorus*, *Trichodorus* y *Paratrachodorus* transmiten unas 15 especies de virus de plantas pertenecientes a los géneros *Nepovirus*, *Tobravirus* y *Cheravirus*. Los síntomas que producen en la mayoría de los casos son manchas en anillo y moteados. Los nematodos adquieren y transmiten los virus cuando se alimentan de los ápices radiculares de las plantas hospedantes. El período de acceso a la

adquisición de los virus varía de minutos a días, y pueden ser retenidos por el nematodo hasta por un año.

El lugar de retención dentro del aparato alimenticio del vector puede variar según las especies virales. Así, los nepovirus y cheravirus son retenidos en la superficie interna del odontostilo de *Longidorus* o en la cutícula del odontóforo y esófago de *Xiphinema*. Los tobravirus, por su parte, quedan retenidos en la cutícula del lumen esofágico del vector. Los virus no persisten a través de la muda, no pasan a través de los huevos, no se multiplican en el nematodo y pueden ser transmitidos por todos los estados del vector. El éxito de la transmisión está asociado con la interacción específica entre la proteína de la cápside y otras proteínas virales no estructurales. En el caso de los tobravirus se ha propuesto que la proteína 2b (no estructural) actúa como un puente que une la partícula viral con la cutícula que reviste el aparato alimenticio del nematodo vector. Este tipo de interacción ha permitido sugerir una transmisión del tipo no persistente-HC, similar al que ocurre en los áfidos. La mancha anillada del tabaco, la hoja en abanico de la vid, la mancha anillada del tomate y el bronceamiento precoz del guisante son ejemplos de enfermedades virales transmitidas por nematodos.

Transmisión por hongos y protozoa

Aproximadamente unos 25 virus son transmitidos por zoosporas (esporas móviles) pertenecientes a tres géneros: *Olpidium* (Chytridiomycota), *Polymyxa* (Plasmodiophoromycota) y *Spongospora* (Plasmodiophoromycota). Los tres géneros implicados son parásitos biotróficos. Los Plasmodiophoromycota son organismos similares a hongos de afinidad incierta, considerados protozoa o protistas, mientras que los Chytridiomycota son hongos verdaderos. La ubicación de las partículas virales en las zoosporas plantea dos patrones de transmisión: a) En algunos virus (Ej. *Bymovirus*), las partículas permanecen dentro de las zoosporas hasta que su citoplasma sea inyectado en la siguiente célula hospedante; b) En el otro caso (Ej. *Cucumber necrosis virus-Tombusvirus*), las partículas son específicamente retenidas en la superficie de la envoltura de las zoospora e inoculadas cuando el hongo (zoosporas) infecte una nueva planta. En este caso, los receptores del vector están distribuidos en la superficie de las zoosporas.

La transmisión de virus de plantas por hongos puede ser considerada tentativamente como homóloga de la categoría no circulativa para los virus asociados a la capa externa de las zoosporas, y circulativa (no propagativa) para los llevados internamente en el citoplasma de la zoospora. No hay evidencias que indiquen que esos virus se multipliquen dentro de sus vectores. No obstante, son llevados internamente en las esporas de resistencia, las cuales pueden persistir en el suelo hasta por más de 20 años. Algunas enfermedades virales transmitidas por hongos son: necrosis rayada del arroz, necrosis del tabaco, vena grande de la lechuga, enanismo del tabaco, mosaico amarillo de la cebada, arrosamiento del maní y potato mop top.

EFFECTO DE LA INFECCIÓN VIRAL EN EL COMPORTAMIENTO DEL VECTOR

Los patógenos pueden inducir cambios en el hospedante o en el comportamiento del vector que aumentan su transmisión. En patosistemas que involucran plantas, tales efectos están prácticamente restringidos a los vectores, ya que son móviles y pueden mostrar preferencias dependiendo del estatus de infección del hospedante. Se ha comprobado que los vectores no infectivos o no virulíferos son atraídos hacia hospedantes infectados con virus. Después de la adquisición del virus, se incrementa la preferencia del vector por hospedantes sanos, maximizando el potencial de transmisión del patógeno al promover el movimiento de los vectores infectivos hacia plantas hospedantes no infectadas.

El áfido *Rhopalosiphum padi*, después de adquirir el virus del enanismo amarillo de la cebada (*Barley yellow dwarf virus*, BYDV), durante la alimentación in vitro, prefiere plantas de trigo no infectadas, mientras que cuando los áfidos no han adquirido el virus prefieren alimentarse de plantas infectadas con el BYDV. Los áfidos que transmiten el virus del mosaico del pepino (*Cucumber mosaic virus*, CMV) son atraídos inicialmente por compuestos orgánicos volátiles de plantas de calabaza infectadas con el CMV, pero luego prefieren colonizar plantas no infectadas. La atracción hacia las plantas infectadas con el CMV, al parecer, es mediada por el incremento en la emisión de compuestos orgánicos volátiles, similares a los emitidos por plantas sanas. Este comportamiento incrementa la diseminación del virus y evidencia la manipulación de un insecto vector por el virus.

Los trips infectados con el TSWV cambian su comportamiento de prueba después de adquirir el virus, y los hace más activos, probando y a la vez inoculando, que los trips no infectados. La colonización y el comportamiento alimenticio de la mosca blanca (*B. tabaci*) es modificado después de la adquisición del virus del encrespamiento foliar amarillo del tomate (TYLCV); la mosca blanca establece colonias más rápidamente e incrementa la duración de la fase de salivación vinculada con la transmisión del TYLCV. Existen muchos otros ejemplos que muestran como los virus de plantas pueden manipular el comportamiento del vector para aumentar su transmisión y diseminación.

INTERACCIONES ENTRE VIRUS

La infección de una planta con dos o más virus puede originar respuestas que difieren de las ocasionadas por los virus actuando en forma individual. La respuesta puede depender de la relación que existe entre los virus y si la infección ocurre en forma simultánea o secuencial.

Interacciones entre virus relacionados. La infección secuencial por razas de un virus o por virus relacionados puede suprimir la infección por otra raza o virus. Este fenómeno ha sido llamado protección cruzada, la cual es definida como la protección conferida a un hospedante por la infección con una raza de un virus que previene la infección por una raza estrechamente relacionada de ese virus.

Interacciones entre virus no relacionados. Las interacciones que se presentan entre virus no relaciona-

dos son diversas, y pueden ocurrir varios grados de dependencia, efectos sinérgicos y complementar el movimiento viral. Aquí solo se mencionan algunos ejemplos que ilustran algunos tipos de estas interacciones.

a) *Dependencia completa.* En algunas combinaciones de virus existe una completa dependencia de un virus sobre otro para su replicación. El virus dependiente es llamado virus satélite, el cual codifica su cápside pero depende de un virus ayudante para su replicación.

b) *Dependencia incompleta.* En otros casos la dependencia es incompleta para la aparición de una enfermedad. Esta situación ocurre entre dos virus donde ambos están normalmente asociados con una enfermedad reconocida en el campo. Por ejemplo, la enfermedad tungro del arroz es causada por la mezcla de los virus baciliforme (RTBV) y esférico (RTSV) del tungro del arroz. Aunque el RTBV es capaz de replicarse de forma independiente en su hospedante, solo puede ser transmitido cuando el saltahoja vector (*Nephotettix virescens*) ha adquirido el RTSV en forma simultánea o previamente, lo cual sugiere que el RTSV puede contribuir con un componente *helper* necesario para la transmisión. El RTSV es naturalmente transmitido por *N. virescens* y causa pocos o ningún síntoma, mientras que el RTBV causa síntomas severos en arroz, no se le conocen vectores propiamente y requiere la presencia del RTSV para la transmisión. Otro ejemplo son los umbravirus, los cuales son transmitidos por inoculación mecánica; sin embargo, en la naturaleza están asociados con luteovirus que le proveen su transmisión por insectos (áfidos) de manera circulativa, no propagativa (persistente). El mecanismo de esta dependencia es la encapsidación del virus dependiente en la cápside del virus ayudante.

c) *Efectos sinérgicos sobre la replicación viral.* Un ejemplo que muestra este tipo de interacción entre virus no relacionados es la infección conjunta de plantas de tabaco por los virus PVX y PVY. Las primeras hojas infectadas muestran una necrosis sistémica severa de las nervaduras producto de la reacción sinérgica. En estas hojas la concentración del PVX es superior unas 10 veces a la concentración que alcanza en una infección simple, mientras que la del PVY permanece normal. Al parecer, el sinérgismo ocasiona una alteración en la normal regulación de los niveles relativos de la polaridad de las dos hebras de ARN durante la replicación viral.

d) *Efectos sobre el movimiento viral.* Algunos virus que infectan sistémicamente a un hospedante pueden complementar el movimiento célula a célula y sistémico de un virus no relacionado, y que no se movería de las células que infectó inicialmente en ese hospedante. Asimismo, pueden complementar el movimiento de un virus restringido a un tipo de tejido (Ej. virus restringidos al floema) para que salga de ese tejido.

INTERACCIÓN PLANTA-VIRUS

Los rangos de hospedantes de los virus fitopatógenos son variables, pudiendo ser muy reducidos o muy amplios. Por ejemplo, el virus de la tristeza de los cítricos (CTV) infecta solamente unas pocas especies del género *Citrus*, mientras que el virus del mosaico del pepino (CMV) afecta

unas 1.200 especies pertenecientes a más de 100 familias de monocotiledóneas y dicotiledóneas, incluyendo muchas hortalizas y ornamentales. Asimismo, el TSWV afecta más de 1.090 especies de plantas, incluyendo cultivos alimenticios importantes y plantas ornamentales.

La susceptibilidad o resistencia de las especies y cultivares a los virus está determinada principalmente por el genotipo del hospedante. Dependiendo de la combinación virus y hospedante, y de las condiciones ambientales, la respuesta de una planta a una infección puede ser desde asintomática hasta una sintomatología severa y en algunos casos hasta muerte de la planta.

Las plantas poseen mecanismos activos y pasivos para prevenir la infección viral. Las defensas pasivas se dan cuando la planta no produce uno o más de los factores requeridos para la reproducción del virus y su diseminación en el hospedante. Las defensas activas incluyen la detección y destrucción de células infectadas con el virus, y son producidas por genes de resistencia específicos en la planta.

Muchas especies vegetales han desarrollado un sistema para reconocer al patógeno agresor y, rápidamente, poner en marcha un bloqueo de la infección. En muchos casos este proceso da lugar a una necrosis que impide el avance del virus y que se conoce como reacción de hipersensibilidad, mientras que en casos de resistencia extrema no aparece necrosis visible. Estas dos formas de resistencia requieren la existencia de un gen de resistencia (R) en la planta y un gen de avirulencia (AVr) en el patógeno. El reconocimiento específico del producto del gen R por el del gen AVr activa una cascada de señales que inducen diferentes respuestas de defensa dedicadas a bloquear la propagación del patógeno. La ausencia o alteración de uno de los dos genes resulta en enfermedad. Este mecanismo de defensa se llama inmunidad desencadenada por efectores o interacción gen-por-gen. Normalmente, los genes de resistencia son efectivos solamente contra un virus en particular.

Además, las plantas poseen un sistema general de defensa comparable con el sistema inmune animal. La principal diferencia entre ambos es que el sistema inmune animal actúa sobre las proteínas del patógeno, mientras que el sistema de defensa vegetal, conocido como silenciamiento de ARN, detecta y degrada moléculas de ARN viral.

Silenciamiento de ARN o ARN de interferencia

La replicación viral y la diseminación a través de los tejidos vegetales pueden estar restringidas por dos mecanismos principales de defensa del hospedante: 1) el silenciamiento de ARN, desencadenado por el reconocimiento de moléculas de ARN viral de doble cadena (ARNdc), y 2) la inmunidad innata o resistencia basal, desencadenada por el reconocimiento de proteínas virales o sus actividades. Se cree que estos mecanismos son responsables de la exclusión de muchos virus de ciertos tejidos y de la restricción de algunos virus a los tejidos floemáticos, donde todavía pueden replicarse, moverse sistémicamente y ser adquiridos por insectos vectores.

El silenciamiento de ARN o ARN de interferencia (ARNi) es un mecanismo altamente conservado en la

naturaleza en el que moléculas de ARN de doble cadena (ARNdc) regulan la expresión de genes. Este mecanismo no solo proporciona defensa contra los virus sino también contra la activación de transposones y transgenes. Además, está involucrado ampliamente en el control del desarrollo. En las plantas, el silenciamiento dirigido por ARNi es un mecanismo de defensa importante que restringe la replicación y la diseminación de los virus (de ARN y de ADN), así como de viroides y satélites virales.

El silenciamiento es desencadenado por la presencia de ARNdc y mediado por ARNi. El ARNdc puede generarse por la presencia de transgenes, la expresión de genes endógenos, por la infección de virus, o bien por medio de la introducción exógena. Es un proceso que permite, mediante complementariedad entre una molécula de ARNi y un ARN transcrito, promover la degradación de este último, así como la reducción de sus niveles de traducción, reprimiendo la expresión de dicho gen. Existen dos clases principales de moléculas de ARN reguladoras que llevan a cabo dicho fenómeno: ARN de interferencia corto (ARNi) y microARN (miARN). Ambas son generadas a partir de ARNcd por una enzima ribonucleasa denominada Dicer, perteneciente a la familia de las ARNasas III, que genera fragmentos de 20-25 nucleótidos. Los ARNi generan degradación del ARNm en el citoplasma y tienen complementariedad perfecta con el ARN mensajero (ARNm) homólogo, mientras que los miARN (otro tipo de ARN no codificante) degradan el ARNm mediante la represión de la traducción por medio de la complementariedad imperfecta con el ARNm.

La expresión génica puede ser regulada tanto a nivel transcripcional como post-transcripcional. A nivel transcripcional, en el núcleo de la célula se inhibe la síntesis del ARNm; es decir, no ocurre la transcripción. El ARNi promueve la metilación del ADN y modificación de las histonas presentes en la cromatina. La eucromatina se transforma en heterocromatina alrededor de un cierto gen (zonas de alta densidad), que impide el acceso de la maquinaria transcripcional (factores de transcripción, ARN polimerasas, etc.) reprimiendo la expresión de dicho gen. A nivel post-transcripcional, los ARNi son incorporados a un complejo denominado RISC (*RNA-induced silencing complex*). Este complejo está compuesto por numerosas proteínas celulares. La incorporación del ARNi al complejo RISC está acoplada a la separación de la doble cadena en cadenas sencillas, sólo una de las cuales, conocida como cadena guía, se mantiene asociada al complejo y sirve para identificar al ARNm con la secuencia complementaria. Cuando las moléculas de ARNm complementarias son encontradas, la interacción entre el ARNi y este ARNm conlleva al corte del ARNm y su posterior degradación. Si el proceso es mediado por miARN, éstos hibridan con el ARNm formando estructuras en bucle que lo desestabilizan, llevándolo de manera directa a la degradación citoplasmática. Al reprimir la transcripción o degradar el ARNm no ocurre la traducción; por lo tanto, no se realiza la síntesis de proteínas que son fundamentales para el virus en procesos tales como encapsidación, replicación, movimiento en el interior del hospedante y transmisibilidad por vectores.

El silenciamiento de un virus puede propagarse sistémicamente por toda la planta después de la inducción en la célula infectada inicialmente. Este movimiento sistémico de la señal de silenciamiento antes del movimiento viral prepara la respuesta de defensa antes de la llegada del virus. El sistema de defensa de silenciamiento de ARN es un problema importante que enfrentan los virus, especialmente los que tienen genoma de ARN. Por lo tanto, estos patógenos han desarrollado una variedad de mecanismos para superarlo, incluida la supresión de la ruta de silenciamiento del ARN, la evitación del sistema de defensa, y posiblemente burlando al sistema de defensa.

Para evadir, atenuar o escapar del efecto antiviral del silenciamiento, los virus han desarrollado diferentes estrategias, siendo la más extendida la capacidad de codificar, al menos, una proteína supresora del silenciamiento génico (*viral suppressor of RNA silencing*, VSR). Algunos VSR son además proteínas esenciales para la replicación, el movimiento y/o la encapsidación del virus en la planta. Los VSR constituyen un claro ejemplo de convergencia evolutiva entre los virus, ya que son capaces de suprimir el silenciamiento génico a pesar de presentar una gran diversidad estructural, en secuencias y actividad. Los VSR utilizan diferentes estrategias para bloquear el silenciamiento génico: a) inactivar proteínas efectoras (AGO1 y AGO2) o bloquear su actividad; b) interferir con la producción de ARNi; c) bloquear la señal de amplificación del silenciamiento génico; d) afectar a la estabilidad de los ARNi; e) inhibir la metilación del ADN dirigida por ARN. El establecimiento de enfermedad o resistencia depende en gran parte del balance entre el silenciamiento génico del virus por parte de la planta y la evasión o supresión de la defensa antiviral por parte del virus.

Síntomas

Los síntomas juegan un papel importante en el estudio de las enfermedades virales. El diagnóstico de campo se basa en gran parte en la sintomatología. Cuando se presenta una enfermedad desconocida, la decisión del uso de técnicas virológicas para verificar la causa de esa patología, por lo general, también depende de la sintomatología. Los síntomas más evidentes de las plantas infectadas por virus son generalmente los que aparecen sobre el follaje, pero algunos virus producen síntomas visibles sobre el tallo, frutos y raíces, con o sin el desarrollo de síntomas foliares. En casi todas las enfermedades virales de las plantas que aparecen en el campo, el virus se encuentra distribuido por toda la planta (infección sistémica), de ahí que los síntomas producidos se les denominen síntomas sistémicos. En muchas plantas herbáceas inoculadas artificialmente con ciertos virus y, probablemente en algunas infecciones naturales, el virus induce la formación de pequeñas lesiones, a menudo necróticas, sólo en los puntos de entrada (infecciones locales), por lo que a los síntomas se les denomina lesiones locales. Se supone que realizada la infección, se produce como reacción de la planta una necrosis de los tejidos adyacentes, lo cual no permite que el virus se traslade al resto de la planta.

Muchos virus infectan a ciertos hospedantes sin provocar el desarrollo de síntomas visibles en ellos. A estos hospedantes se les denomina portadores asintomáticos. Sin embargo, en otros casos, las plantas que por lo común muestran síntomas una vez que han sido infectadas por un cierto virus, pueden permanecer temporalmente asintomáticas con ciertas condiciones ambientales (temperatura), y a dichos síntomas se les conoce como síntomas enmascarados.

En la expresión de los síntomas en plantas infectadas por virus influyen muchos factores. Distintas razas de un mismo virus pueden inducir síntomas considerablemente distintos en ciertas plantas hospedantes. Los diferentes cultivares de una misma especie de planta pueden también reaccionar en forma muy distinta ante una determinada raza viral. Los factores ambientales como temperatura, luz y nutrición pueden tener una influencia marcada sobre la expresión de síntomas. Las condiciones óptimas para la expresión de síntomas varían con las distintas combinaciones de hospedante-virus. Por lo general, en una determinada enfermedad aparecen varios síntomas combinados, y el patrón de desarrollo de una enfermedad para una combinación hospedante-virus en particular, frecuentemente, involucra un desarrollo secuencial de diferentes tipos de síntomas. Los principales tipos de síntomas sistémicos son los siguientes:

Efecto sobre el tamaño de la planta. El síntoma más común inducido por los virus de plantas es el enanismo, en mayor o menor grado. Los órganos (hojas, tallos, flores, frutos) tienen un menor tamaño de lo normal.

Mosaico y síntomas relacionados. Un síntoma clásico de infección viral es el desarrollo de áreas de color verde claro y verde oscuro, lo cual crea un efecto de mosaico en las hojas infectadas. En algunos casos se observan tonalidades de color amarillo claro e incluso blanquecino. En monocotiledóneas, un síntoma común de infección viral es la aparición de estrías o bandas de tejido más claro que el resto de la hoja, aunque en algunos casos las estrías o bandas pueden ser amarillentas o blanquecinas. En las flores puede observarse un variegado en el color de los pétalos. Plantas que exhiben síntomas de mosaico pueden presentar un moteado en sus frutos.

Amarillamiento. Este tipo de síntoma se inicia por lo general como un aclaramiento o amarillamiento de las nervaduras en las hojas jóvenes seguido por un amarillamiento general o enrojecimiento de las hojas. Este amarillamiento puede ser suave o severo.

Enrollamiento foliar. Las hojas se doblan por los bordes usualmente hacia arriba y adquieren un aspecto coriáceo, pero, ocasionalmente, se pueden doblar hacia abajo.

Manchas anilladas. Son anillos concéntricos y líneas irregulares en las hojas y algunas veces también se presentan en los frutos, bulbos y tubérculos. Las líneas consisten de tejido amarillento o puede ser debido a la muerte de capas de células superficiales (grabado).

Necrosis. Algunas virosis se caracterizan por la muerte de tejidos, órganos o la planta entera. La necrosis puede avanzar a través de las nervaduras a medida que el virus avanza en la hoja, pudiéndose diseminar rápidamente a

toda la planta, principalmente a los puntos de crecimiento. Generalmente, previo a la necrosis se presenta marchitez.

Desarrollo de anomalías. Puede presentarse un crecimiento irregular de la lámina foliar, caracterizado por deformación, ampollamiento o filimorfismo. Algunos virus pueden causar sobrecrecimientos (hinchazón o fasciación en tallos y enaciones en hojas), mientras que otros ocasionan crecimientos similares a tumores. También pueden inducir acanaladuras en los tallos y en otros casos causan necrosis o incompatibilidad en la unión patrón-injerto.

Marchitamiento. Algunas enfermedades virales causan un marchitamiento de la parte aérea de la planta que conduce a la muerte de toda la planta.

Efectos genéticos. La infección con algunos virus puede inducir un incremento en la tasa de mutación en ciertos hospedantes.

Efectos fisiológicos y bioquímicos. La replicación, el movimiento y la acumulación de virus en las plantas pueden causar trastornos en la fisiología y el metabolismo del hospedante. La mayoría de los sistemas funcionales de la planta son afectados directa o indirectamente por la infección viral. En general, los cambios fisiológicos y bioquímicos más comúnmente encontrados en plantas infectadas con virus son: Disminución de la fotosíntesis, frecuentemente asociada con una disminución en los pigmentos fotosintéticos, cloroplastos, ribosomas y rubisco (ribulosa bifsosfato carboxilasa-oxigenasa); aumento de la respiración; incremento en la actividad de ciertas enzimas, particularmente polifenoloxidasas; y disminución o incremento en la actividad de reguladores del crecimiento de las plantas (hormonas). Los efectos que causan los virus sobre los compuestos nitrogenados, sobre los reguladores de crecimiento y sobre los compuestos fenólicos con frecuencia se han considerado como las causas inmediatas de varios tipos de síntomas. Uno de los efectos más comunes causados por virus que inducen síntomas de mosaico y amarillamiento es una reducción en la cantidad de rubisco (la proteína más abundante del hospedante). En plantas infectadas con el TMV se ha estimado una reducción en la síntesis de proteínas del hospedante de hasta 75% durante el período de replicación viral. Algunos virus tienen poco efecto sobre los carbohidratos foliares, mientras que otros pueden alterar su síntesis y traslado. Los síntomas de amarillamientos generalmente están asociados a la presencia de virus en el floema que alteran el equilibrio de la relación almidón/azúcar.

Otros agentes que inducen síntomas parecidos a los virales. Existen varios agentes biológicos, físicos y químicos que inducen síntomas de enfermedades similares a los causados por virus. Entre estos agentes figuran: fitoplasmas, spiroplasmas, rickettsias (bacterias), toxinas producidas por artrópodos, deficiencias nutricionales, altas temperaturas, hormonas y daños por insecticidas y contaminantes del aire. Además, variantes genéticas, algunas de las cuales pueden ser causadas por transposones, pueden parecerse a mosaicos y variegado foliar causados por virus. Por esta razón, es necesario tener

mucho cuidado en el diagnóstico de una nueva enfermedad de etiología viral. El diagnóstico correcto de enfermedades virales normalmente requiere de pruebas específicas de laboratorio.

DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN

Una vez que se ha establecido que la causa de una enfermedad es un virus, es necesario realizar una serie de pruebas para determinar su identidad. Es esencial la identificación precisa de los virus para poder controlarlos. Los procedimientos para la identificación varían de acuerdo con el virus involucrado, las instalaciones disponibles y el grado de confianza que se requiere para la identificación. La información requerida para identificar los virus fitopatógenos difiere de un grupo viral a otro. Algunos virus son difíciles de identificar, y otros relativamente fáciles.

Los virus son demasiados pequeños para poder ser detectados a simple vista o a través del microscopio óptico; por lo tanto, su presencia es detectada inicialmente por la sintomatología exhibida por la planta hospedante. Debido a que diferentes virus pueden producir síntomas similares, la sintomatología de la enfermedad puede proveer solamente información limitada, aunque útil, para el diagnóstico. Los métodos de identificación viral más específicos y confiables se basan en diferentes propiedades de los virus, algunas de las cuales se citan a continuación:

Actividades biológicas del virus: plantas indicadoras, rango de hospedantes, mecanismo de transmisión, efectos citológicos.

Propiedades físicas de la partícula viral: estabilidad y propiedades físico-químicas (densidad, coeficiente de sedimentación, coeficiente de difusión y espectro de absorción de luz UV), microscopía electrónica (forma y tamaño de los viriones, inclusiones).

Propiedades de las proteínas virales: serología, técnicas inmunológicas (inmunodifusión doble, ELISA, microscopía electrónica inmuoadsorbente, Western blotting, Dot blots), electroforesis.

Propiedades del ácido nucleico viral: tamaño y tipo de ácido nucleico, patrón de segmentación del ADN, hibridación, Dot blots, reacción en cadena de la polimerasa (PCR), microarreglos de ADN.

Muchos de estos métodos o criterios pueden ser aplicados en la identificación de algunos virus, pero sólo unos cuantos en el caso de otros virus. La identificación se realiza por lo general comparando un virus en prueba con otro conocido. Toda la información que se pueda acumular basándose en distintos métodos o criterios debe usarse para decidir si dos aislamientos virales deben considerarse como variantes de un mismo virus o de virus distintos. En estas notas se describen solo algunos de los métodos o criterios antes mencionados.

Bioensayos o pruebas de patogenicidad en plantas indicadoras. Algunas especies de plantas de los géneros *Chenopodium*, *Cucumis*, *Datura*, *Gomphrena*, *Lycopersicon*, *Nicotiana*, *Phaseolus*, *Solanum*, *Sorghum*, *Vigna* y *Zea* son hospedantes de un gran número de virus. Debido a que

estas plantas tienen respuestas consistentes y distintivas a las infecciones virales en condiciones de invernadero, es común usarlas como plantas indicadoras. Los dos tipos principales de respuesta son lesiones locales e infecciones sistémicas. Muchos de los virus de plantas son transmisibles a plantas indicadoras por medio de transmisión mecánica o por injertos.

Microscopía electrónica. En los laboratorios de virología donde se dispone de un microscopio electrónico los investigadores pueden utilizarlo para el diagnóstico. Sólo se requiere de una poca cantidad de savia proveniente de tejido infectado (una gota), la cual se coloca en una rejilla de transmisión, se tiñe y se observan las partículas de interés (tinción negativa). La facilidad para detectar las partículas depende principalmente de la concentración del virus en el tejido enfermo. Mediante el microscopio electrónico se puede conocer la forma y el tamaño de las partículas virales, así como algunas características de su superficie, lo cual es un requerimiento básico para la identificación. En algunos casos, es necesario realizar cortes ultrafinos para visualizar las muestras. Con base en la morfología y el tamaño, un virus puede ser tentativamente asignado a un grupo taxonómico particular. No obstante, algunos virus isométricos pequeños no pueden ser distinguidos de miembros o grupos no relacionados basados en la morfología solamente.

Cuerpos de inclusión. En el citoplasma de las células de plantas infectadas se han detectado varios tipos de estructuras específicas de los virus llamados cuerpos de inclusión. Estas estructuras están constituidas por la acumulación de partículas virales (arreglos cristalinos tridimensionales), agregados de proteínas codificadas por el virus (inclusiones cilíndricas) o modificaciones de organelos celulares asociados a la replicación viral (viroplasmata). Generalmente se ubican en el citoplasma, pero en algunos casos se encuentran en el núcleo. En cortes ultrafinos de tejido infectado pueden observarse a través del microscopio electrónico este tipo de estructuras. Por ejemplo, las especies virales de la familia *Potyviridae* producen inclusiones en forma de "aspas de molino", características de las especies de esa familia, pero que no se encuentran ni en células sanas ni en células infectadas con otros virus. Las inclusiones específicas de los virus han sido caracterizadas en un gran número de familias y géneros virales, y la detección de estas inclusiones indica la presencia de un virus perteneciente a dicho grupo. Debido a que los cuerpos de inclusión no son formados por otros patógenos, su presencia en las plantas es una buena evidencia de infección viral. Sin embargo, la ausencia o inhabilidad de observar los cuerpos de inclusión en las células de una planta no significa que no esté infectada con un virus. Es importante mencionar, que algunas inclusiones alcanzan un tamaño tal que pueden ser observadas con el microscopio de luz.

Serología. La serología es una de las principales formas de identificar virus y de establecer la relación o la similitud entre éstos. Es útil para cuantificar la concentración de un virus y puede servir para indicar su presencia hasta en plantas que no muestran síntomas.

Muchas de las pruebas serológicas son rápidas y requieren poco equipo. Las reacciones serológicas son el resultado de la combinación específica entre antígenos y anticuerpos. Un antígeno es una sustancia (generalmente una proteína) que cuando se inyecta a un animal (conejo o ratón) induce a la formación de proteínas que reaccionan específicamente con el antígeno y se denominan anticuerpos.

La capa proteica (cápside) de los virus es la que induce a la formación de anticuerpos, ya que posee determinantes específicos, componentes fundamentales para su identificación, clasificación y conocimiento de la relación que pudiera existir entre ellos. Estos anticuerpos pertenecen al grupo de las gammaglobulinas, se encuentran principalmente en el suero sanguíneo (antisuero), y constituyen una respuesta inmunológica o defensa a la introducción del agente infeccioso o antígeno (virus) que provocó su origen. Anticuerpos producidos contra un virus específico se unirán a ese virus. Las pruebas serológicas difieren en cómo se detecta esa unión.

Los métodos serológicos y moleculares aplicados al diagnóstico y a la identificación de los virus de plantas son muy numerosos. En estas notas sólo se describen muy brevemente algunos de ellos.

Método de Ouchterlony o doble inmunodifusión. Depende de la formación de una línea de precipitación en el lugar en que se encuentran el antígeno y el anticuerpo al difundir en un gel. Es un método utilizado en el diagnóstico y en el estudio de las relaciones serológicas existentes entre virus. Cuando dos antígenos difunden en un gel desde posiciones vecinas hacia la misma fuente de anticuerpos se pueden observar tres patrones diferentes de precipitación en el lugar en que las líneas se juntan: a) cuando ambas líneas se fusionan; b) cuando hay formación de espolón o fusión parcial de las líneas; c) cuando las líneas de precipitación se entrecruzan. Estos patrones de precipitación representan reacciones de identidad, identidad parcial y no identidad entre los antígenos correspondientes, respectivamente.

La doble inmunodifusión es un método sencillo y barato. Sin embargo, tiene las desventajas de requerir gran cantidad de antisuero y de no poder ser usado con el extracto crudo de muchas plantas hospedantes naturales, debido a la baja concentración de virus presente en ellas, o a la presencia de factores en el extracto que interfieren con la reacción.

ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay). Una de las variantes más utilizadas de esta técnica es el "doble sándwich de anticuerpo" (ELISA-DAS) y constituye la metodología utilizada en el diagnóstico de virus de plantas a gran escala. La fracción de gammaglobulina precipitada de un antisuero se absorbe en los orificios de una placa de microtítulo de poliestireno y posteriormente se lava el exceso de anticuerpos. Las muestras en estudio (generalmente savia de plantas infectadas) se agregan a los orificios y se incuban para que el virus pueda reconocer su anticuerpo específico; luego se remueve la savia mediante lavado. Una fracción de gammaglobulina adicional se conjuga con fosfatasa alcalina, se agregan alícuotas a cada orificio y se incuban. Si el virus está

presente en el hueco, el conjugado enzima-anticuerpo se une al virus durante la incubación. Posteriormente se lava y se adiciona el sustrato (p-nitrofenil fosfato) a cada orificio y se incuban. La reacción positiva se evidencia por el desarrollo de una coloración amarilla claramente más intensa que en los testigos, lo cual permite la evaluación visual cualitativa y/o la evaluación colorimétrica cuantitativa de la relación antígeno/anticuerpo. Una molécula de enzima puede catalizar la conversión de muchas moléculas del sustrato, lo que permite que pequeñas cantidades de antígeno puedan ser detectadas.

ELISA es un método que presenta una alta sensibilidad, lo cual le permite detectar concentraciones muy bajas de virus (1-10 ng/ml). Además, es un método relativamente simple, rápido, requiere poca cantidad de antisuero, su costo es moderado y permite manejar un gran número de muestras. El equipo requerido para la detección rutinaria de algunos virus de plantas por esta técnica se encuentra disponible en forma comercial, y puede ser usado aun sin tener acceso a las facilidades de un laboratorio.

Microscopía electrónica inmunoabsorbente. Esta metodología, desarrollada bajo el nombre de *Serologically Specific Electron Microscopy* (SSEM), introdujo dos aspectos importantes: a) el recubrimiento de rejillas del microscopio electrónico con anticuerpos y su posterior incubación con el antígeno. Los anticuerpos así adsorbidos a la rejilla atrapan selectivamente las partículas virales del extracto concentrándolas y permitiendo una distribución uniforme; b) los lavados después de la adsorción de los anticuerpos y de la unión con el antígeno, remueven residuos celulares y sales que interfieren con el proceso de tinción y visualización de las partículas virales. Esta metodología presenta una alta sensibilidad (para algunos autores similar a ELISA), consume poca cantidad de antisuero y permite utilizar antisueros de bajo título. Las desventajas más importantes son el alto costo de operación y la disponibilidad del equipo de microscopía electrónica.

Dot Blot. Este método es básicamente un ELISA-DAS, en el cual se utiliza como fase sólida papel de nitrocelulosa en vez de poliestireno y sustratos precipitables en vez de sustratos solubles. Al igual que en ELISA la intensidad de color desarrollado permite la evaluación cualitativa y cuantitativa de la relación antígeno/anticuerpo. Sin embargo, el uso de sustratos precipitables que desarrollan un color fuerte, permiten una evaluación cualitativa visual más eficiente. Su sensibilidad es mejor que ELISA (0,2 ng/ml), debido a una unión más eficiente del anticuerpo al papel de nitrocelulosa. Además, es un método sencillo, de costo relativamente bajo, que permite analizar gran número de muestras.

Electroforesis. Este método está basado en la migración de macromoléculas de ácidos nucleicos o proteínas en un campo eléctrico, utilizando matrices inertes de poliacrilamida o agarosa. La distancia recorrida es proporcional a la carga neta y al tamaño de la molécula. Luego de la migración, se añade al gel una sustancia que reaccione con la molécula de interés, revelando su posición. El patrón de bandas resultantes en el gel es específico para un organismo dado.

En el caso de los virus, la electroforesis ha sido aplicada para detectar los dos componentes virales: proteínas y ácidos nucleicos. La proteína de la cápside puede encontrarse en altas concentraciones en tejido infectado, por lo que una simple comparación de patrones polipeptídicos entre material sano e infectado pudiera indicar la presencia del patógeno. Cuando la concentración de la cápside es baja, las proteínas de las plantas, que forman un fondo muy complicado, reducen la utilidad de la técnica. Cada virus presenta un patrón electroforético distinto, dependiendo del tamaño y distribución del genoma.

Durante la replicación de los virus que contienen ARN (el 90% de los virus fitopatógenos) se forman unas moléculas de ARN_{dc} que pueden ser aisladas por su distintiva afinidad para unirse a celulosa CF-11. La planta sana normalmente no presenta este tipo de moléculas de ARN bicatenario, por lo que su detección en tejido sospechoso, casi siempre se debe a la presencia de un virus. La electroforesis es particularmente útil para la detección y purificación de viroides debido a la migración anormal de las moléculas circulares de ácido nucleico en geles de poliacrilamida conteniendo urea. Estas moléculas por lo general migran más lentamente que sus equivalentes lineares; por lo tanto, se separan más fácilmente de los demás ácidos nucleicos.

Western blotting. Permite identificar una proteína específica en una mezcla compleja de proteínas. Para ello, una mezcla de proteínas se separa por medios electroforéticos en un gel de SDS-poliacrilamida (SDS-PAGE). Las bandas de proteínas se transfieren a una membrana de nitrocelulosa mediante electrotransferencia, y las bandas individuales de proteína se identifican al inundar la membrana de nitrocelulosa con anticuerpo monoclonal o policlonal radiomarcado o unido a una enzima específica para la proteína de interés. Los complejos antígeno-anticuerpo que se forman en la banda que contiene la proteína reconocida por el anticuerpo pueden visualizarse de diversos modos. Si un anticuerpo radiactivo se unió a la proteína de interés, es posible determinar su posición en la mancha (blot) exponiendo una placa de rayos X a la membrana (autorradiografía). Sin embargo, en los procedimientos de detección que más se usan suelen emplearse anticuerpos unidos a la enzima contra la proteína. Tras la unión del conjugado de enzima y anticuerpo, la adición de un sustrato cromógeno que produce un producto de color intenso e insoluble origina la aparición de una banda de color en el sitio del antígeno blanco. Puede lograrse una sensibilidad mucho más alta si se usa un compuesto quimioluminiscente aunado a agentes de realce adecuados para producir luz en el sitio del antígeno.

Reacción en cadena de la polimerasa (Polymerase Chain Reaction, PCR). Es un método *in vitro* en el cual secuencias específicas de ADN son amplificadas rápidamente con una alta especificidad y fidelidad usando oligonucleótidos iniciadores (*primers*) y una polimerasa de ADN termoestable (Taq ADN polimerasa). El ADN del cual se parte para iniciar una PCR se obtiene del tejido vegetal infectado o de virus purificado. El ADN es

separado en dos cadenas sencillas por desnaturalización a temperatura alta (94 °C). La ADN polimerasa requiere de una cadena preexistente de ADN molde y de un pequeño segmento sintético complementario a esa cadena. Este pequeño segmento que se usa para alargar o extender la cadena se conoce como iniciador o *primer*, y es un oligonucleótido de 15 a 30 bases nucleotídicas. Si el ADN de la muestra es complementario a los iniciadores, empieza la duplicación del ADN. De lo contrario, no hay amplificación, ya que la polimerasa sólo puede añadir nuevos nucleótidos al final de una cadena de nucleótidos ya existente, la cual es proporcionada por los iniciadores. Para aparear o hibridar este oligonucleótido a la molécula molde se requiere de una temperatura de 45-65 °C, dependiendo del ensayo. Los primers son específicos únicamente para determinadas secuencias del ADN del organismo que se desea detectar. La extensión del iniciador se logra mediante una polimerización por medio de la ADN polimerasa y desoxiribonucleótidos trifosfatos (dNTPs). Esta extensión de los iniciadores resultará en la síntesis de una copia del ADN (ADN_c). La ADN polimerasa funciona bien a 72 °C.

Los tres pasos anteriores (desnaturalización, apareamiento y extensión) constituyen un ciclo. El producto de la polimerización del primer ciclo sirve de molde para el siguiente, de tal modo que el número de copias del ADN blanco se duplica exponencialmente en cada ciclo de polimerización. Una molécula de ADN puede ser amplificada un millón de veces en pocas horas. La cantidad de producto nuevo sintetizado permite visualizar el segmento amplificado en un gel de agarosa o poliacrilamida por electroforesis. También se puede observar por hibridación con sondas marcadas. Si la secuencia buscada se amplificó, se considera que el patógeno estaba presente en la muestra. Durante la aplicación de PCR en el diagnóstico se podría detectar cantidades que por pequeñas no serían importantes como causa de una enfermedad. También se podría detectar patógenos no viables. Por esta razón, los resultados obtenidos por PCR deben analizarse en conjunto con otros antecedentes para una interpretación ponderada de ellos.

Sistemas de secuenciación de nueva generación (Next-Generation Sequencing, NGS). Estos sistemas no requieren un planteamiento previo de los virus que se evaluarán, pues, utilizan sondas y cebadores genéricos que se unen con adaptadores de secuencias conocidas para generar las librerías de ADN o ADN_c (para virus de ARN), que representan la totalidad de los ácidos nucleicos concurrentes en muestras individuales o complejas (metagenómicas). Los sistemas NGS más utilizados corresponden a los basados en pirosecuenciación, secuenciación por síntesis con fluorocromos y los que utilizan el cambio de pH durante la incorporación de nucleótidos en la polimerización del ADN. Con esta metodología se genera una gran cantidad de datos de secuencias que, por métodos bioinformáticos, son filtrados, ensamblados y comparados con bases de datos moleculares (ej. GenBank, EMBL), con el fin de establecer identidades con respecto a secuencias de origen viral y de esta forma plantear hipótesis de identificación taxonómica de los componentes del viroma. Los tipos de

análisis no solo permiten el diagnóstico de virus conocidos sino que también facilitan enormemente la caracterización genética y la posibilidad de encontrar nuevas especies o variantes de virus desconocidas. El viroma de un tejido, hospedante o población se define como la cantidad de especies virales presentes en la muestra bajo análisis, e incluye las variantes identificadas para cada especie y las proporciones relativas de cada uno de los virus detectados. Los sistemas de NGS también son conocidos como de secuenciación masiva o paralela.

Diagnóstico rutinario. En el diagnóstico rutinario de los virus de ocurrencia más común, es muy útil contar con un antisuero para cada virus. Un investigador con experiencia puede hacer un diagnóstico tentativo sobre la base de síntomas, especie y cultivar de la planta infectada, y sitio donde la planta fue recolectada. Para verificar su diagnóstico usará el antisuero indicado. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que muchas plantas en el campo pueden estar infectadas por más de un virus, y que una prueba serológica con un antisuero detectaría a uno sólo de los virus presentes. En el diagnóstico de los virus de un cultivo en particular es también útil mantener varias plantas indicadoras o huéspedes diferenciales que permiten diferenciar los virus que comúnmente se encuentran en ese cultivo. La exactitud del diagnóstico por huéspedes diferenciales deberá verificarse periódicamente por métodos más apropiados (técnicas serológicas y/o moleculares).

CLASIFICACIÓN Y NOMENCLATURA

El ente encargado de la clasificación y la nomenclatura (taxonomía) de los virus es el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (*International Committee on Taxonomy of Viruses*, ICTV), actividad que ha venido realizando desde 1966. El ICTV es una organización sin fines de lucro, compuesta por virólogos que representan a países de todo el mundo; apoyan nombres de virus y taxones a través de un proceso democrático. Funciona a través de subcomités y grupos de estudio con más de 500 virólogos especializados en virus que infectan plantas, humanos, animales, insectos, protozoos, micoplasmas, archaea, bacterias, hongos y algas.

Las propuestas taxonómicas son iniciadas y formuladas por los grupos de estudio o por personas individuales. Son revisadas, expuestas al escrutinio público, y de ser aceptadas por los subcomités correspondientes, son presentadas para su aprobación por el Comité Ejecutivo del ICTV. Todas las decisiones son ratificadas por el voto postal, donde todos los miembros del ICTV y más de 50 sociedades microbiológicas están representados. El ICTV no impone taxones pero asegura que todas las proposiciones sean compatibles con el Código Internacional de Nomenclatura y Clasificación de Virus para asegurar precisión, homogeneidad y consistencia. Asimismo, publica regularmente informes que describen todos los taxones virales existentes y contiene una lista completa de los virus clasificados con sus acrónimos.

En la etapa actual, la información utilizada para clasificar los virus es la secuencia de nucleótidos. El uso de esta información se está volviendo cada vez más

frecuente en la taxonomía de virus, lo cual se evidencia por la presencia de un número significativo de árboles filogenéticos en los últimos informes del ICTV y por el creciente número de publicaciones científicas sobre este tema. Algunos científicos están promoviendo el concepto de taxonomía cuantitativa, destinada a demostrar que las secuencias del genoma viral contienen codificada toda la información necesaria para todas sus propiedades biológicas.

En los últimos años se han hecho esfuerzos considerables para diseñar un sistema jerárquico de taxonomía de virus con Reino, Phylum, clases, órdenes, familias, géneros y especies. En el año 2015, el ICTV presentó un reporte que incluyó 3 órdenes, 23 familias, 8 subfamilias, 117 géneros y 1.260 especies de virus fitopatógenos. La lista de especies ICTV-2016 (Versión 1.3) incluyó 1.351 especies de virus de plantas, 72 especies de ADN-Satélites y 32 especies de viroides. La lista ICTV-2018b presentó 1.695 especies. Toda esta información así como los criterios que demarcan los diferentes taxones puede ser consultada en <https://talk.ictvonline.org>.

Debido a la dificultad de crear nuevos nombres oficiales internacionales para las especies de virus, el ICTV decidió en 1998 utilizar los nombres vernáculos existentes, escritos en inglés. Desde hace varios años, los virólogos de plantas adoptaron una nomenclatura diferente, utilizando el nombre vernáculo del virus, pero reemplazando la palabra "virus" por el nombre del género: Ej. *Maize dwarf mosaic potyvirus*. Este sistema se llama "sistema binomial no-latinizado". Aunque binomial, el orden es opuesto al del sistema binomial latinizado, lo que significa que el nombre del género va al final del nombre del virus. Aunque ha sido utilizado por muchos científicos, no ha sido adoptado como un sistema universal por el ICTV.

CONTROL DE LOS VIRUS

Las virosis vegetales son responsables de importantes pérdidas en la agricultura de todo el mundo, lo que ha llevado a fitopatólogos y fitomejoradores a desarrollar diferentes estrategias para su control. Dado que la replicación de los virus está inexorablemente unida a la maquinaria replicativa de la célula huésped, cualquier interferencia sobre el proceso de replicación puede conllevar alteraciones en distintos procesos biológicos del huésped. Por ello, a diferencia de las enfermedades bacterianas o fúngicas, el control de las virosis es de tipo preventivo y no curativo, ya que una vez que una planta está infectada es muy poco lo que se puede hacer.

El primer paso requerido para el manejo de enfermedades virales es la identificación del virus. La estrategia de manejo subsiguiente dependerá de la forma por la cual un determinado virus ingresa al cultivo, de cómo el virus es transmitido entre las plantas de un mismo cultivo, y de cómo el virus sobrevive en ausencia de ese cultivo. Es decir, para controlar con cierta eficacia los virus de plantas es indispensable conocer sus propiedades, y principalmente su forma de difusión en la naturaleza. Sin estos datos, ninguna medida de control puede ser implementada.

Para prevenir la infección del cultivo por virus, o al menos minimizar su impacto, el agricultor dispone de algunas opciones, tales como: a) Eliminar fuentes de inóculo (combate de malezas y plantas voluntarias en el campo o en sus cercanías); b) Evitar la entrada de inóculo (reducción de la llegada de vectores y la utilización de material de siembra libre de virus); c) Evitar o reducir la infección de plantas sanas (control químico o biológico del vector); d) Evitar la multiplicación del virus en la planta (siembra de variedades resistentes, protección cruzada, uso de plantas modificadas genéticamente); e) Reducir el impacto en la producción (evitar la infección temprana, uso de variedades tolerantes).

La mejor forma de controlar una enfermedad viral es erradicándola de un área mediante cuarentenas, inspecciones y sistemas de certificación. La existencia de hospedantes asintomáticos, el período de incubación que transcurre después de haberse producido la inoculación y la ausencia de síntomas visibles en la semilla, tubérculos, bulbos y cepas de viveros hacen que las cuarentenas en ocasiones sean ineficaces. La erradicación de las plantas enfermas para eliminar al inóculo del campo puede, en algunos casos, ser útil para controlar la enfermedad. Las plantas pueden estar a salvo de ciertos virus protegiéndolas de los vectores de esos patógenos. El control de los insectos vectores y la eliminación de malezas que le sirven de huéspedes es útil para controlar la enfermedad.

Salvo muy raras excepciones, una vez introducidos los virus en los tejidos de las plantas sólo se pueden eliminar por la destrucción de aquellas. De esta condición deriva la gran importancia de las enfermedades virales, especialmente en aquellos cultivos que se multiplican vegetativamente (rizomas, estacas, estolones, tubérculos, injertos, bulbos), como es el caso de la papa, batata, caña de azúcar, yuca, ornamentales, frutales y otros, en los cuales los virus se perpetúan en forma indefinida. En cultivos que se multiplican por semilla, como es el caso de cultivos anuales, los virus tienen menos importancia, ya que la transmisión por esta vía es poco frecuente. Sin embargo, a menudo se registran en estos cultivos epidemias que ocasionan graves pérdidas, por la rápida propagación a través de insectos vectores durante el desarrollo del cultivo.

El uso de semillas, tubérculos, yemas y otros órganos libres de virus es el método de mayor importancia que permite evitar las enfermedades virales de muchos cultivos, en particular de los que carecen de insectos vectores. La revisión periódica de las plantas madres que producen tales órganos vegetativos es necesaria para tener la certeza de que están libres de virus. En estos casos, las pruebas serológicas (ELISA) juegan un papel muy importante. En la actualidad se utilizan varios tipos de programas de inspección y certificación en zonas que producen semillas, tubérculos y cepas de viveros que se utilizan para propagación.

En el campo, la diseminación de la mayoría de los virus fitopatógenos se realiza a través de vectores biológicos. En este caso es importante conocer la especie

transmisora, su biología y las fuentes primarias de infección (malezas o cultivos). También es importante conocer si el virus es persistente o no persistente en el vector. El control de los vectores puede reducir la incidencia de la enfermedad en virus de transmisión circulativa propagativa, ya que los insectos correspondientes son una fuente permanente de inóculo durante toda su vida. En cambio, el control químico de vectores que transmiten virus de modo no persistente (no circulativo) suele ser poco efectivo debido a que, una vez que el vector virulífero se ha alimentado en la planta receptora, la transmisión es generalmente más rápida que la muerte del vector. En estos casos podría ser más efectivo el uso de repelentes que evite su alimentación en la planta.

En el caso de los virus que se transmiten a través del suelo, por nematodos y por hongos, se requiere conocer la forma de transmisión y la biología de estos agentes vectores. Las pérdidas causadas por virus transmitidos por nematodos pueden ser reducidas considerablemente mediante fumigaciones del suelo con nematocidas. Los virus que se transmiten por semilla y por polen son más difíciles de controlar.

Una estrategia alternativa para el control de virus es la utilización de resistencia a la infección viral, sea natural o modificada por ingeniería genética. Si existen genes naturales de resistencia viral pueden introducirse a los cultivares de un determinado cultivo por técnicas de mejoramiento convencional. El mejoramiento genético de plantas para obtener una resistencia heredable ante el ataque de los virus ha sido de gran importancia, y ha permitido la obtención de muchos cultivares resistentes a ciertas virosis. Frecuentemente, los genes naturales de resistencia se encuentran en los distintos genotipos disponibles de un cultivo determinado, así como en plantas silvestres identificadas cerca del centro de origen del cultivo en cuestión. La ingeniería genética permite la introducción de dichos genes en especies no emparentadas entre sí.

La tecnología de modificación genética ha planteado muchas posibilidades para proteger las plantas contra la infección viral y para usar virus fitopatógenos como vectores de genes. Las secuencias más comúnmente utilizadas para proteger las plantas son secuencias virales, ya sea codificando una proteína viral que interfiere con el ciclo de replicación del virus objeto de estudio, o una secuencia no codificante, que inicia el sistema de defensa de silenciamiento del ARN. El enfoque mediado por el silenciamiento de ARN para combatir las virosis se ha convertido en una herramienta poderosa en la producción de cultivos resistentes. La comprensión exhaustiva de los mecanismos involucrados puede ayudar al desarrollo de nuevos sistemas antivirales en las plantas. Por otra parte, la investigación en proteínas de plantas antivirales, sin duda, proporcionará nuevos conocimientos sobre sus mecanismos de acción y podría facilitar el desarrollo de nuevas herramientas biotecnológicas para mejorar el rendimiento general de los cultivos y la calidad de los productos, así como disminuir la aplicación de plaguicidas.

CRISPR-Cas9 se perfila como una tecnología con grandes expectativas para luchar contra las enfermedades que afectan a las plantas, entre ellas las causadas por virus. Este sistema ha sido adaptado para diseñar la herramienta de edición de genomas más poderosa y disponible en la actualidad con un sin fin de aplicaciones en la genómica funcional de eucariotas. Es una herramienta molecular utilizada para editar o corregir el genoma de cualquier célula. Es una especie de tijeras moleculares, capaces de cortar cualquier molécula de ADN, haciéndolo de una manera muy precisa y totalmente controlada. Esa capacidad de cortar el ADN es lo que permite modificar su secuencia, eliminando o insertando un nuevo gen. El sistema CRISPR-Cas9 se ha utilizado recientemente para diseñar resistencia antiviral contra geminivirus y será parte de los esfuerzos actuales para identificar o validar los genes de susceptibilidad en plantas, dirigiendo la ingeniería genética de resistencia antiviral sin necesidad de hacer plantas transgénicas.

A pesar de que la ingeniería genética ofrece oportunidades ilimitadas para la obtención de cultivares resistentes a virus, su aplicación en gran escala ha enfrentado cierta resistencia por parte de algunos investigadores, agencias de control y público en general. Para poder estimar si las plantas genéticamente modificadas para resistencia a virus son seguras, se necesita primero entender en profundidad los riesgos potenciales al ambiente asociados con su liberación.

En algunas combinaciones huésped-virus, la enfermedad causada por cepas severas del virus puede ser evitada si las plantas son inoculadas primero con una cepa suave del mismo virus (protección cruzada o bioprotección), la cual protege a la planta de la infección por la raza severa. La explicación más racional de este fenómeno es por el mecanismo de silenciamiento del ARN inducido por la infección viral.

Una vez que se encuentran en el interior de una planta, algunos virus pueden ser inactivados mediante calor. Los órganos de propagación en reposo comúnmente son sumergidos en agua caliente (35-54 °C) por unos pocos minutos u horas, mientras que las plantas de crecimiento activo con frecuencia se mantienen en invernaderos o cámaras de crecimiento a una temperatura de 35 a 40 °C durante varios días, semanas o meses. Durante este período el virus que se encuentra en algunas de estas plantas se inactiva y las plantas sanan por completo. También pueden producirse plantas libres de virus mediante la técnica de cultivo de tejidos, partiendo de plantas ya infectadas por estos patógenos al cultivar explantes de pequeño tamaño (0,1-10 mm) de meristemas apicales y de la raíz en medios apropiados.

Aún no se dispone de sustancias químicas (viricidas) para controlar las enfermedades virales de las plantas en el campo. Sin embargo, la ribavirina, aplicada como aspersión o inyectada en las plantas, reduce los síntomas drásticamente y, con algunos virus, aparentemente los elimina de las plantas tratadas. Asimismo, la aplicación foliar de algunas sustancias reguladoras del crecimiento (Ej. ácido giberélico) han sido eficaces para contrarrestar el efecto producido por algunos virus.

De lo expuesto anteriormente se evidencia que el hombre ha desarrollado varios métodos para limitar la acción destructiva de estos agentes patógenos. Sin embargo, los virus siguen aún causando pérdidas cuantiosas en la mayoría de los cultivos del mundo entero. Y no existe prácticamente especie botánica de valor comercial que no sea susceptible a alguno de ellos.

NATURALEZA DE LOS VIRUS

El origen y la evolución de los virus es un tema que sigue fascinando a los científicos. Debido a su gran diversidad, aun no hay acuerdos en cómo clasificarlos y cómo relacionarlos con el árbol de la vida. Por una parte, podemos ver a los virus como elementos genéticos que tienen la capacidad de moverse entre las células, o como primitivos organismos libres que han acabado siendo parásitos de las células, o como los precursores de la vida y el origen de las células. Son un paradigma de simplicidad biológica que los sitúa en la frontera de la vida. Ni siquiera hay consenso en responder a la pregunta de si los virus son seres vivos o no. Cualquier respuesta a esta pregunta depende de cómo definamos la vida.

Las definiciones de un organismo vivo varían ampliamente, siendo esta una de las más aceptadas: "Un organismo vivo tiene estructura celular y se manifiesta por el crecimiento a través del metabolismo, la reproducción y el poder de adaptación al medio ambiente a través de cambios que se originan internamente". Mientras que los virus se multiplican y se adaptan, no son celulares y no metabolizan; dependen del metabolismo de sus células huésped. Así, técnicamente no son organismos vivos y no se debe usar el término ciclo de vida del virus.

Si tratásemos el problema como lo haría un genetista, deberíamos resaltar que los virus son, indudablemente, elementos genéticos, capaces de reproducirse ellos mismos y de controlar la síntesis de proteínas virales específicas. Puesto que la multiplicación y la mutación son propiedades exclusivas de los seres vivos, el genetista consideraría al virus, probablemente, un ser vivo. El fisiólogo, que estudia el flujo de materiales y energía, pondría el mayor énfasis en el hecho de que la multiplicación de los virus no se produce sino a través de una célula que proporciona el metabolismo energético, la maquinaria de síntesis proteica y los bloques estructurales de los polímeros del virus; por tanto, el fisiólogo, posiblemente, concluiría que un virus no es un ser vivo. Aunque ambos puntos de vista son válidos, ninguno de ellos aisladamente es completamente satisfactorio.

Los virus tienen una composición química bien definida y permanente, capaz de producir reacciones inmunológicas propias de cada virus, identificables con el organismo hospedante. Además, existe una interrelación entre la partícula virus y la célula del hospedante que parasita, hasta tal punto que un virus puede regenerar su cápside a expensas de las proteínas propias del hospedante. Esto ha sido demostrado en experiencias con la desproteínización de la cápside del TMV.

La composición química nucleoproteica, propia de cada entidad viral, determina el comportamiento de un virus, la forma, dependencia de un sistema celular dado,

multiplicación, especificidad antigénica y continuidad genética. Químicamente, los virus están constituidos por los elementos de vida más simples que se pueda concebir en una entidad biológicamente organizada, y el hecho de que los virus sean incapaces de autoduplicarse por sí solos, no obstante poseer un código genético específico, esto los coloca en algún punto intermedio entre lo viviente y lo inanimado, con más tendencia a ubicarse en la categoría de entidades vivientes parásitos obligados de las células.

En síntesis, los virus tienen propiedades exclusivas de ellos mismos, tales como: se multiplican solamente por su ácido nucleico, carecen de información genética para la síntesis y consecuente producción de energía (ATP), no poseen maquinaria enzimática para sintetizar sus proteínas y no poseen ribosomas. Estas características no son propias de otros organismos infecciosos, de modo que los que las poseen son virus.

EFECTOS BENEFICIOSOS

Desde la identificación del TMV en los años 1890-1896, los virus han sido considerados como patógenos. Todos los seres vivos, desde las bacterias más sencillas hasta los gorilas, pasando por las algas, las plantas y los insectos, son infectados por algún tipo de virus, normalmente por varios tipos de virus distintos al mismo tiempo. Sin embargo, existen muchos virus que son claramente mutualistas. Algunos son esenciales para la supervivencia de sus huéspedes, otros le confieren a sus hospedantes una ventaja de lucha en el mundo competitivo de la naturaleza y algunos se han asociado con sus hospedantes durante tanto tiempo que la línea entre hospedante y virus se ha desdibujado.

Los tulipanes adquieren un color variegado muy atractivo al estar infectados por el virus del rayado del tulipán (*Tulip breaking virus*, TBV). Estos tulipanes variegados eran muy apreciados en el siglo XVII en Europa. A finales de 1636, un solo bulbo de tulipán var Viceroy se podía cambiar por 22 Mg de trigo, 35 Mg de centeno, 20 bueyes, 80 cerdos gordos o 9 Mg de queso, por ejemplo. Esta obsesión se transformó rápidamente en una auténtica "burbuja económica", una de las primeras de las que se tiene registro. En poco tiempo los precios de los tulipanes comenzaron a caer en picada, todo el mundo vendía y nadie compraba. Como ves hasta los virus pueden ser responsables de una crisis económica.

Mediante la inoculación de plantas con cepas o razas atenuadas de un virus se logra reducir el impacto causado por infecciones posteriores por razas severas del mismo virus. Este fenómeno, llamado protección cruzada, ha sido utilizado para el control de la tristeza de los cítricos y la mancha anillada de la lechosa. El descubrimiento de *Cryphonectria hypovirus 1* (CHV-1), el cual atenúa la patología del agente causal de la quemazón del castaño, despertó un interés en el uso de los virus como agentes de biocontrol para patógenos de plantas. Algunos virus de hongos fitopatógenos han sido estudiados por su potencial hipovirulencia, pero pocos han sido explotados con esos propósitos.

Algunos virus fitopatógenos (BMV, CMV, TRV, TMV), bajo un tipo de mutualismo condicional, le confieren a las plantas hospedantes tolerancia a la sequía y al frío. Por otra parte, algunos virus que infectan en forma latente a sus hospedantes, tales como *White clover cryptic virus* (WCCV), pueden suprimir la nodulación en leguminosas (fabáceas) cuando están presentes las dosis adecuadas de nitrógeno. En algunos casos, pararetrovirus endógenos pueden proteger a las plantas contra algunos virus relacionados, aunque no siempre es así.

Estudios de biodiversidad de virus indican que las plantas son infectadas por numerosos virus que no tienen efectos dañinos aparentes sobre sus hospedantes. Estos virus tienen una larga relación con sus plantas hospedantes, siendo transmitidos verticalmente, quizás por miles de años, e implicados fuertemente en una interacción positiva. Este tipo de virus latentes son también comunes en cultivos tales como pimentón, arroz, caraota, zanahoria, higo, rábano, trébol blanco, melón, cebada y aguacate.

Si bien en el siguiente caso de endosimbiosis no participa un virus fitopatógeno, es importante mencionarlo. En el Parque Nacional de Yellowstone (EE.UU.) el suelo puede alcanzar temperaturas de hasta 50°C en algunas zonas. Pocas plantas pueden resistir esas temperaturas y crecer en esos sitios del parque, excepto la poácea *Dichanthelium lanuginosum*. Los científicos estudiaron cómo esta planta es capaz de tolerar temperaturas del suelo de más de 46°C, y encontraron un tipo de simbiosis muy peculiar, entre la planta, un hongo endófito (*Curvularia protuberata*) y un virus (*Curvularia thermal tolerance virus*): el virus infecta al hongo que a su vez infecta a la planta. Si el hongo no está infectado por el virus, no es capaz de conferir la tolerancia a la temperatura a la planta. Se requieren ambos, el virus y el hongo, para que la planta pueda crecer en esos suelos tan calientes. Este es un ejemplo de endosimbiosis donde gracias a un virus una planta adquiere nuevas propiedades.

Finalmente, los recientes progresos como resultado de un mayor entendimiento de las interacciones virus-hospedante han transformado a los virus en importantes herramientas biomédicas y biotecnológicas. Por ejemplo, los virus fitopatógenos se usan para producir en las plantas grandes cantidades de proteínas de interés y para desarrollar vacunas seguras y de bajo costo contra virus que infectan humanos y animales.

AGENTES SUBVIRALES

Viroides. Son moléculas de ARN monocatenarios circulares que no codifican proteínas. A diferencia de los virus, no tienen cubierta proteica (cápside). Los viroides son las unidades genéticas más pequeñas capaces de autoreplicarse, y su genoma contiene entre 245 y 400 nucleótidos. A pesar de ser muy pequeños, la importancia económica de los viroides puede resultar devastadora. Se estima que más de 40 millones de cocoteros en Filipinas han muerto como resultado de la enfermedad causada por el viroide cadang-cadang del cocotero (*Coconut cadang-cadang viroid*, CCCVd). El viroide más estudiado es el causante del tubérculo ahusado de la papa (*Potato spindle*

tuber viroid, PSTVd). En Venezuela han sido identificados los viroides causantes de la exocortis de los cítricos (*Citrus exocortis viroid*, CEVd) y de la mancha de sol del aguacatero (*Avocado sunblotch viroid*, ASBVd). Para la detección de los viroides no se utilizan pruebas inmunológicas, ya que no producen ninguna proteína durante la infección. Los protocolos de diagnóstico se basan en bioensayos (transmisión mecánica en plantas indicadoras) y en técnicas de detección del ARN del viroide (electroforesis, hibridación de ácidos nucleicos, PCR). Los viroides se diseminan de una planta a otra a través de material vegetativo, herramientas de poda, semilla o por polen. No se conocen vectores implicados en su transmisión.

Virus Satélites. Son agentes subvirales que codifican su propia capa proteica pero dependen de un virus ayudante (*helper*) para su replicación, aunque su genoma difiere parcial o totalmente del genoma del virus ayudante.

ARN Satélite y ADN Satélite. Su ácido nucleico viene empaquetado en una envoltura proteica derivada de la proteína de la cápside del virus ayudante, y requieren de éste para su replicación. El ácido nucleico no forma parte del genoma del virus auxiliar. Los virus Satélites y los ADN y ARN Satélites afectan la sintomatología de la enfermedad al menos en algunos hospedantes, generalmente atenuando los síntomas.

Virusoides. Varios ARN satélites asociados con un grupo particular de virus tienen propiedades estructurales parecidas a los viroides. Estos agentes se han denominado virusoides, pero este término es poco utilizado.

Priones. Representan el extremo opuesto a los viroides, pues, están constituidos exclusivamente por proteína. El gen que codifica la proteína del prión se encuentra en la célula hospedante, y el prión modifica de alguna manera su producto proteico. La partícula proteica del prión es infecciosa y tendría la capacidad de "multiplicarse". No se trata de una verdadera replicación sino de un efecto de toxicidad mediante el cual la proteína involucrada, que normalmente se expresa en el cerebro, sufre una modificación estructural que le impide metabolizarse y consecuentemente se acumula para finalmente producir la muerte neuronal. Se conocen varios priones que causan enfermedades en animales, tales como el prurito lumbar de las ovejas y cabras (*scrapie*), la encefalopatía espongiiforme bovina (enfermedad de las vacas locas) y el kuru y la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob en el hombre.

BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G. 2005. Plant Pathology. 5 ed. New York, USA, Elsevier Academic Press. 922 p.
- Ayllón, MA; Cambra, M; Llave, C; Moriones, E. 2016. Enfermedades de plantas causadas por virus y viroides. España, Bubok Publishing S.L. 1828 p.
- Blanc, S. 2010. Vector transmission of plant viruses. In Mahy, BWJ; van Regenmortel, MHV (eds.). Desk Encyclopedia of Plant and Fungal Virology. San Diego, USA, Academic Press. p. 10-18.
- Conti, M; Gallitelli, D; Lisa, V; Lovisolo, O; Martelli, GP; Ragozzino, A; Rana, GL; Vovlas, C. 2001. Principales virus de las plantas hortícolas. Madrid, España, Mundi-Prensa. 206 p.
- Dietzgen, RG; Mann, KS; Johnson, KN. 2016. Plant virus-insect vector interactions: Current and potential future research directions. Viruses 8:303-323.
- Fauquet, CM; Martelli, GP. 2013. Viral classification and nomenclature. In: eLS. John Wiley & Sons, Chichester. DOI: 10.1002/9780470015902.a0000440.pub3.
- Fereres, A; Raccach, B. 2015. Plant virus transmission by insects. In: eLS. John Wiley & Sons, Chichester. DOI: 10.1002/9780470015902.a0000760.pub3.
- Garrido, MJ; Brito, M. 2016. Transmisión de virus de plantas por coleópteros. Rev. Fac. Agron. (UCV) 42:61-74.
- Gergerich, RC; Dolja, VV. 2006. Introduction to plant viruses, the invisible foe. American Phytopathological Society. Disponible en <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/pathogengroups/pages/plantviruses.aspx>
- García-Ruiz, H; García-Ruiz, MT; Gabriel-Peralta, SM; Miravel-Gabriel, CB; El-Maunadi, K. 2016. Mechanisms, applications, and perspectives of antiviral RNA silencing in plants. Revista Mexicana de Fitopatología 34: 286-307.
- Hull, R. 2014. Plant Virology. 5th ed. London, England, Academic Press. 1118 p.
- Ingwell, LL; Eigenbrode, SD; Bosque-Pérez, NA. 2012. Plant viruses alter insect behavior to enhance their spread. Scientific Reports 2:578. DOI: 10.1038/srep00578.
- Kindt, TJ; Goldsby, RA; Osborne, BA. 2007. Inmunología de Kuby. 6 ed. México, McGraw Hill. 574 p.
- King, AMQ; Adams, MJ; Carstens, EB; Lefkowitz, EJ. (eds.). 2012. Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego, USA, Academic Press. 1327 p.
- Kleinow, T. (ed.). 2016. Plant-Virus Interactions. Molecular Biology, Intra- and Intercellular Transport. New York, USA, Springer. 190 p.
- Lewin, B. 2008. Genes IX. 9 ed. México, McGraw Hill. 892 p.
- López-Goñi, I. 2015. Virus y Pandemias. España, Glyphos Publicaciones. 222 p.
- Madigan, MT; Martinko, JM; Parker, J. 2004. Brock: Biología de los Microorganismos. 10 ed. Madrid, España, Pearson Prentice Hall. 1096 p.
- Marín-Montoya, M; Gutierrez-Sánchez, PA. 2016. Principios de Virología Molecular de Plantas Tropicales. Mosquera, Colombia, Corporacion Colombiana de Investigacion Agropecuaria (Corpoica). 308 p.
- Roossinck, MJ. 2015. A new look at plant viruses and their potential beneficial roles in crops. Molecular Plant Pathology 16:331-333.
- Rotenberg, D; Jacobson, AL; Schneweis, DJ; Whitfield, AE. 2015. Thrips transmission of tospoviruses. Current Opinion in Virology 15:80-89.
- Sastry, KS; Zitter, TA. 2014. Plant Virus and Viroid Diseases in the Tropics. Volume 2: Epidemiology and Management. New York, USA, Springer. 489 p.
- Syller, J. 2014. Biological and molecular events associated with simultaneous transmission of plant viruses by invertebrate and fungal vectors. Molecular Plant Pathology 15:417-426.

Esta Guía de Estudio no pretende sustituir los cursos y la literatura recomendada donde el estudiante tiene la posibilidad de actualizar y profundizar en cualquier aspecto de este tema que considere de interés.

ALGUNOS SÍNTOMAS VIRALES

