

# **Evidencia de orígenes filogenéticos diferentes de dos aislamientos mexicanos del virus del mosaico de la caña de azúcar (SCMV)**

## **Evidence of different phylogenetic origins of two Mexican *Sugarcane mosaic virus (SCMV)* isolates**

*Giovanni Chaves-Bedoya<sup>1\*</sup>, y Luz Yineth Ortiz-Rojas<sup>1†</sup>*

<sup>1</sup>Docente-Investigador Facultad de Ciencias Básicas e Ingenierías, Universidad de los Llanos. Km 12 Vía Puerto López, Villavicencio, Colombia.

\*Autor para correspondencia: gchavesbe@gmail.com; †luzyinethortiz@yahoo.es

Rec.: 01.03.12 Acept.: 25.03.12

### **Resumen**

El análisis molecular del cistrón, que codifica para la proteína de la cubierta del virus del mosaico de la caña de azúcar (SCMV) reportado en la base de datos del banco de genes (GenBank), reveló la presencia de 45 nucleótidos adicionales que codifican para quince aminoácidos, en la región amino de la secuencia de la proteína de la cubierta del aislamiento mexicano identificado con el número de acceso GU474635. El análisis BLAST indicó que esta característica particular también está presente en el aislamiento D00949, reportado en 1991 en Estados Unidos. El análisis filogenético de 185 secuencias de la proteína de la cubierta de SCMV reportadas de Asia, África, Brasil y Argentina, entre otros, sugiere diferentes orígenes filogeográficos de los aislamientos mexicanos. El aislamiento mexicano GU474635 es filogenéticamente más cercano a aislamientos de SCMV de Brasil y de EE.UU., mientras que secuencias de la proteína de la cubierta del virus SCMV reportadas en China y Alemania son filogenéticamente más cercanas al aislamiento mexicano EU091075. Las características particulares que comparten aislamientos virales de tres países del continente americano, a saber, EE.UU., México y Brasil, sugieren un bajo control fitosanitario en el intercambio de material vegetal.

**Palabras clave:** Filogenia, maíz, proteína de la cubierta, virus del mosaico.

### **Abstract**

The molecular analysis of the Sugarcane mosaic virus (SCMV) for coat protein cistron reported in the public GenBank database, revealed the presence of 45 additional nucleotides coding for 15 amino acids in the N-terminal region of the coat protein sequence of the Mexican isolate GU474635. BLAST analysis indicates this particular feature is also present in the coat protein sequence identified with the accession number D00949 reported in the USA in 1991. Phylogenetic analysis of 185 SCMV coat protein sequences reported from Asia, Africa, Brazil and Argentina among others, suggest a putative different phylogeographical origin of the Mexican SCMV isolates. Coat protein sequence from isolate GU474635 is phylogenetically closer to isolates from Brazil and USA, while SCMV coat protein sequences from Germany and Spain are phylogenetically closer to the coat protein from isolate EU091075. Particular features among SCMV isolates from different countries along the American continent, i.e. USA, Mexico and Brazil suggest low phytosanitary control in plant material exchange among countries.

**Key words:** Coat protein, maize, mosaic virus, phylogeny.

## Introducción

El virus del mosaico de la caña de azúcar (SCMV) es un miembro del grupo de los *Potyvirus*, familia *Potyviridae*, los cuales pueden infectar diferentes cultivos que incluyen la caña de azúcar, el sorgo y el maíz y causar mosaicos, clorosis y enanismo (Shukla *et al.*, 1989). Tradicionalmente, los aislados de SCMV originados en la caña de azúcar fueron designados como razas de SCMV; y los originados en maíz como razas de MDMV. Sin embargo, tanto las razas de SCMV como de MDMV-B comparten muchas propiedades en común y, por tanto, MDMV-B fue considerado una raza de SCMV (Shukla *et al.*, 1994). Estos potyvirus, que infectan la caña de azúcar, fueron incluidos en un subgrupo de SCMV que consta de cuatro especies distintas pero relacionadas: SCMV, virus del mosaico del sorgo (SrMV), virus del mosaico del enanismo del maíz (MDMV) y virus del mosaico del pasto johnson (JGMV). Entre estos virus, solamente SCMV y SrMV infectan la caña de azúcar en condiciones naturales y son considerados los agentes causales del mosaico de esta planta, reportado en más de setenta países (Jeffery *et al.*, 1998).

Las partículas virales de esta familia son filamentosas y van desde los 650 hasta los 900 nm de longitud y de los 11 a los 13 nm de ancho. Poseen una cadena simple de ARN de cadena positiva de 10 kb aproximadamente. El genoma de SCMV es poliadenilado (Adams *et al.*, 2005) y presenta una proteína VPg unida covalentemente al extremo 5'. El genoma está rodeado por aproximadamente 2.000 unidades de proteína de la cubierta (CP) (Chen *et al.*, 2001). La CP potyviral cumple diferentes funciones que incluyen la transmisión por áfidos, el movimiento célula a célula, el movimiento sistémico, la encapsidación del genoma y la regulación de la amplificación de ARN. La región amino de la CP contiene el motivo DAG, altamente conservado entre los *Potyvirus* y son transmitidos por áfidos (Dombrovsky *et al.*, 2005). El análisis de la estructura genética y la variación de las poblaciones son áreas cruciales de la biología y en el caso de los virus, altamente relevantes para el desarrollo de estrategias de control de enfermedades o epidemias, así como para

propósitos de diagnóstico (Jridi *et al.*, 2006; Martin *et al.*, 2006), por lo que en las últimas dos décadas el interés en la estructura genética de las poblaciones virales ha emergido y evolucionado considerablemente (Fondong y Chen, 2011; Garcia-Arenal *et al.*, 2001; Ge *et al.*, 2007; Glasa *et al.*, 2011; Holmes, 2003; Jridi *et al.*, 2006; Martin *et al.*, 2006; Moreno *et al.*, 2004; Rommelfanger *et al.*, 2012; Yoshida *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2011). Entender la estabilidad genética viral y la composición nucleotídica de diferentes aislamientos con orígenes distintos son aspectos clave para el desarrollo de estrategias de control viral (Moreno *et al.*, 2004; Tan *et al.*, 2004).

En este estudio se analizaron las secuencias nucleotídicas de 185 CP reportadas alrededor del mundo, con el propósito de establecer las relaciones filogenéticas de las dos únicas secuencias americanas (México) completas de SCMV y reportadas en el GenBank (Aislamientos 1 y 2 en el Cuadro 1). Los análisis moleculares indican diferencias entre los aislamientos americanos en la región amino de la proteína de la cubierta. Esta diferencia resulta en dos poblaciones putativas de SCMV con diferente origen filogenético que infectan el maíz en su centro de origen y diversificación.

## Materiales y métodos

### Secuencias de la proteína de la cubierta de SCMV y alineamiento

Las secuencias de la CP de SCMV se buscaron en la base pública de secuencias conocida como GenBank. Al momento de realizar el estudio se seleccionaron 206 secuencias, que se indican en el Cuadro 1. Con el propósito de una identificación más detallada, de cada acceso se muestra el país de origen, el año de recolección o de publicación y el hospedante en los casos en que la información se encontraba disponible. El criterio de selección inicial de las secuencias fue la presencia del motivo altamente conservado DAG. Todas las secuencias fueron alineadas a partir de los aminoácidos deducidos empleando ClustalW en el programa MEGA, versión 4.0 (Kumar *et al.*, 2008), usando los parámetros por defecto; el alineamiento de secuencias se ajustó de manera manual en los casos en los que fue

EVIDENCIA DE ORÍGENES FILOGENÉTICOS DIFERENTES DE DOS AISLAMIENTOS MEXICANOS DEL VIRUS DEL MOSAICO DE LA CAÑA DE AZÚCAR (SCMV)

**Cuadro 1.** Secuencias de la CP de SCMV obtenidas en el GenBank empleadas en los análisis. Hosp: hospedante, MZ: maíz, SC: caña de azúcar, NA: sin información

	GenBank	PAIS	HOSP	AÑO	GenBank	PAIS	HOSP	AÑO	GenBank	PAIS	HOSP	AÑO	GenBank	PAIS	HOSP	AÑO			
1	EU091075	MEX	MZ	2010	53	AJ491933	AFR	SC	2003	105	AY630923	THAI	SC	2004	157	EF419173	CHN	SC	2007
2	GU474635	MEX	MZ	2010	54	AJ491934	AFR	SC	2004	106	AY639645	CHN	MZ	2004	158	JN021933	CHN	MZ	2011
3	AF006728	NA	NA	1997	55	AJ491935	AFR	SC	2005	107	AY836523	US	MZ	2004	159	EF507708	CHN	SC	2007
4	AF006730	NA	NA	1997	56	AJ491936	AFR	SC	2006	108	AY953351	CHN	NA	2005	160	EF507709	CHN	SC	2007
5	AF006731	NA	NA	1997	57	AJ491937	AFR	SC	2007	109	D00948	AUS	SC	1991	161	EF507710	CHN	SC	2007
6	AF006733	NA	NA	1997	58	AJ491938	AFR	SC	2008	110	D00949	AUS	NA	1991	162	EF507711	CHN	SC	2007
7	AF006734	NA	NA	1997	59	AJ491939	AFR	SC	2009	111	DQ227694	CHN	SC	2005	163	EF507712	CHN	SC	2007
8	AF006735	NA	NA	1997	60	AJ491940	AFR	SC	2010	112	DQ315489	BRA	NA	2005	164	EF507716	CHN	SC	2007
9	AF006736	NA	NA	1997	61	AJ491941	AFR	SC	2011	113	DQ315490	BRA	NA	2005	165	EU196421	ARG	SC	2007
10	AF006737	NA	NA	1997	62	AJ491942	AFR	SC	2012	114	DQ315491	BRA	NA	2005	166	EU196422	ARG	SC	2007
11	AF006738	NA	NA	1997	63	AJ491943	AFR	SC	2013	115	DQ315492	BRA	NA	2005	167	EU196423	ARG	SC	2007
12	AF494510	CHN	MZ	2002	64	AJ491944	AFR	SC	2014	116	DQ315493	BRA	NA	2005	168	EU196424	ARG	SC	2007
13	AJ006199	ALE	NA	1998	65	AJ491945	AFR	SC	2015	117	DQ315494	BRA	NA	2005	169	EU196425	ARG	SC	2007
14	AJ006200	ALE	NA	1998	66	AJ491946	AFR	SC	2016	118	DQ315495	BRA	NA	2005	170	EU196426	ARG	SC	2007
15	AJ006201	ALE	NA	1998	67	AJ491947	AFR	SC	2017	119	DQ315496	BRA	NA	2005	171	EU196427	ARG	SC	2007
16	AJ006202	ALE	NA	1998	68	AJ491948	AFR	SC	2018	120	AJ491985	AFR	SC	2005	172	EU196428	ARG	SC	2007
17	AJ271085	CHN	MZ	2000	69	AJ491949	AFR	SC	2019	121	AJ491986	AFR	SC	2005	173	EU196429	ARG	SC	2007
18	AJ297628	CHN	MZ	2002	70	AJ491950	AFR	SC	2020	122	AY630923	THAI	SC	2005	174	EU196430	ARG	SC	2007
19	AJ310102	CHN	SC	2002	71	AJ491951	AFR	SC	2021	123	AY639645	CHN	MZ	2005	175	EU196431	ARG	SC	2007
20	AJ310103	CHN	SC	2002	72	AJ491952	AFR	SC	2022	124	AY836523	US	MZ	2005	176	EU196432	ARG	SC	2007
21	AJ310104	CHN	SC	2002	73	AJ491953	AFR	SC	2023	125	AY953351	CHN	NA	2005	177	EU196433	ARG	SC	2007
22	AJ310105	CHN	MZ	2002	74	AJ491954	AFR	SC	2024	126	D00950	AUS	SC	2005	178	EU196434	ARG	SC	2007
23	AJ310106	CHN	MZ	2001	75	AJ491955	AFR	SC	2025	127	D00951	AUS	NA	2005	179	EU196435	ARG	SC	2007
24	AJ310107	CHN	MZ	2001	76	AJ491956	AFR	SC	2026	128	DQ927694	CHN	SC	2005	180	EU196436	ARG	SC	2007
25	AJ310108	CHN	MZ	2001	77	AJ491957	AFR	SC	2027	129	DQ315489	BRA	NA	2005	181	EU196437	ARG	SC	2007
26	AJ310109	CHN	MZ	2001	78	AJ491958	AFR	SC	2028	130	DQ315490	BRA	NA	2005	182	EU196438	ARG	SC	2007
27	AJ310110	CHN	MZ	2001	79	AJ491959	AFR	SC	2029	131	DQ315491	BRA	NA	2005	183	EU196439	ARG	SC	2007
28	AJ310111	CHN	MZ	2001	80	AJ491960	AFR	SC	2030	132	DQ315492	BRA	NA	2005	184	EU196440	ARG	SC	2007
29	AJ311168	ESP	NA	2001	81	AJ491961	AFR	SC	2031	133	DQ315493	BRA	NA	2005	185	EU196441	ARG	SC	2007
30	AJ311169	ESP	NA	2001	82	AJ491962	AFR	SC	2032	134	DQ315494	BRA	NA	2005	186	EU196442	ARG	SC	2007
31	AJ421467	CHN	SC	2001	83	AJ491963	AFR	SC	2033	135	DQ315495	BRA	NA	2005	187	EU196443	ARG	SC	2007
32	AJ421468	CHN	SC	2001	84	AJ491964	AFR	SC	2034	136	DQ315496	BRA	NA	2006	188	EU196444	ARG	SC	2007
33	AJ421469	CHN	SC	2001	85	AJ491965	AFR	SC	2035	137	AJ491987	AFR	SC	2006	189	EU196445	ARG	SC	2007
34	AJ438190	CHN	NA	2002	86	AJ491966	AFR	SC	2036	138	AJ491988	AFR	SC	2006	190	EU196446	ARG	SC	2007
35	AJ491917	AFR	SC	2002	87	AJ491967	AFR	SC	2037	139	AY630923	THAI	SC	2006	191	EU196447	ARG	SC	2007
36	AJ491918	AFR	SC	2002	88	AJ491968	AFR	SC	2038	140	AY639645	CHN	MZ	2006	192	EU196448	ARG	SC	2007
37	AJ491919	AFR	SC	2002	89	AJ491969	AFR	SC	2039	141	AY836523	US	MZ	2006	193	EU196449	ARG	SC	2007
38	AJ491920	AFR	SC	2002	90	AJ491970	AFR	SC	2040	142	AY953351	CHN	NA	2006	194	EU196450	ARG	SC	2007
39	AJ491921	AFR	SC	2002	91	AJ491971	AFR	SC	2041	143	D00952	AUS	SC	2006	195	EU196451	ARG	SC	2007
40	AJ491922	AFR	SC	2002	92	AJ491972	AFR	SC	2042	144	D00953	AUS	NA	2006	196	EU196452	ARG	SC	2007
41	AJ491923	AFR	SC	2002	93	AJ491973	AFR	SC	2043	145	DQ227694	CHN	SC	2006	197	EU196453	ARG	SC	2007
42	AJ491924	AFR	SC	2002	94	AJ491974	AFR	SC	2044	146	DQ315489	BRA	NA	2006	198	EU196454	ARG	SC	2007
43	AJ491925	AFR	SC	2002	95	AJ491975	AFR	SC	2045	147	DQ316232	CHN	SC	2006	199	EU196455	ARG	SC	2007
44	AJ491926	AFR	SC	2002	96	AJ491976	AFR	SC	2046	148	DQ316235	CHN	MZ	2006	200	EU650180	IND	SC	2008
45	AJ491927	AFR	SC	2002	97	AJ491977	AFR	SC	2047	149	DQ316236	CHN	SC	2006	201	NC003398	CHN	MZ	2000
46	AJ491928	AFR	SC	2002	98	AJ491978	AFR	SC	2048	150	DQ316238	CHN	SC	2006	202	X98165	ALE	NA	1996
47	AJ491929	AFR	SC	2002	99	AJ491979	AFR	SC	2049	151	DQ316239	CHN	MZ	2006	203	X98166	ALE	NA	1996
48	AJ491930	AFR	SC	2002	100	AJ491980	AFR	SC	2050	152	DQ866744	IND	SC	2006	204	X98167	ALE	NA	1996
49	AJ491931	AFR	SC	2002	101	AJ491981	AFR	SC	2051	153	DQ866745	IND	SC	2006	205	X98168	ALE	NA	1996
50	AJ491932	AFR	SC	2002	102	AJ491982	AFR	SC	2052	154	DQ866746	IND	SC	2006	206	X98169	ALE	NA	1996
51	AJ491983	AFR	SC	2053	103	DQ866747	IND	SC	2006	155	EF066741	IND	SC	2006					
52	AJ491984	AFR	SC	2054	104	EF066739	IND	SC	2006	156	EF419171	CHN	SC	2007					

necesario. De las 206 secuencias iniciales se descartaron aquellas que estaban incompletas o muy cortas y aquellas secuencias únicas que generaban brechas o gaps que causaban problemas mayores en el alineamiento.

Con los criterios anteriores, se eliminaron del conjunto veintiuna secuencias y queda un total de 185 resaltadas en gris en el Cuadro 1. Con base en el alineamiento de aminoácidos deducidos de las 185 secuencias nucleotídicas seleccionadas, se ajustó de manera manual la longitud de cada secuencia a 747 nucleótidos, que codifican para 249 aminoácidos, contando desde el motivo DAG hasta la secuencia consenso de aminoácidos **SRTPARAKEA**. Los aminoácidos resaltados con negrilla son altamente conservados en todas las secuencias. Con este procedimiento se pretendió un mejor alineamiento que resulta en árboles filogenéticos más confiables.

### Árboles filogenéticos

Los árboles filogenéticos se construyeron empleando el algoritmo de Neighbor-joining (NJ) (Saitou and Nei, 1987) en el programa MEGA. La divergencia de secuencias se estimó por el método de dos parámetros de Kimura (Kimura, 1980) y los árboles filogenéticos se visualizaron usando *tree explorer* en MEGA 4.0. Para estimar la confianza de los patrones de ramificación de los árboles filogenéticos se empleó un valor de remuestreo con 1.000 repeticiones. Los árboles filogenéticos generados en MEGA se exportaron en formato PDF y se editaron empleando el programa Canvas 10 en plataforma Mac OS X 10.6.8.

## Resultados y discusión

### Estructura genómica

El alineamiento inicial de los aminoácidos deducidos de las secuencias completas de la proteína de la cubierta de SCMV permitió identificar secuencias reportadas en Brasil, EE.UU y México, con un total de 328 aminoácidos y quince adicionales, en comparación con la mayoría de secuencias CP de SCMV. La secuencia CP del aislamiento identificado con el número de acceso GenBank GU474635, reportado en México, tiene un total de 984 nucleótidos comparado con la

secuencia de la misma región genómica del aislamiento EU091075, también mexicano, con 939 nucleótidos que codifican para 313 aminoácidos. El peso molecular estimado de la proteína de la cubierta del aislamiento EU091075 es de 33.82 kDa, mientras que la CP del aislamiento GU474635 tiene un peso molecular estimado de 34.71 kDa. La similitud de secuencias entre la región CP de los dos aislamientos mexicanos es de 88.3%. La razón biológica de la secuencia adicional de aminoácidos encontrados en algunos de los aislamientos de SCMV puede ser variada. La región variable de la CP de *Potyvirus* es necesaria para la transmisión por áfidos y la infección sistémica y es importante para la adaptación del virus al hospedero. La especificidad en la transmisión del virus por vectores se define por la capacidad de una especie de vectores en transmitir ciertos virus pero no otros (Dombrovsky *et al.*, 2005). En el caso de los *Potyvirus*, la transmisión depende de la presencia de un componente ayudador que interactúa con la región amino terminal de la CP (Dombrovsky *et al.*, 2005). La especificidad de la interacción entre la CP y HC se caracterizó in vitro con el virus del moteado de las venas del tabaco (TVMV) por medio de ensayos de interacción proteína-proteína. HC interactúa con viriones o monómeros de CP procedentes de TVMV transmitido por áfidos, pero no para TVMV no transmitido por áfidos. En *Potyvirus*, la interacción HC ocurre con la región amino terminal de la CP, que incluye el motivo DAG (Blanc *et al.*, 1997) y los aminoácidos en la región amino cerca al motivo DAG afectan la transmisión por áfidos. Es decir, el contexto en el cual el motivo DAG se localiza dentro de la región amino terminal juega un papel importante en la determinación de la eficiencia de la transmisión de los *Potyvirus* por áfidos (López-Moya *et al.*, 1999). Estudios más recientes han sugerido el papel de la región amino de la CP en el reconocimiento de diferentes HC de virus que infectan diversos hospedantes (Dombrovsky *et al.*, 2005). En este contexto es válido pensar que la variación en el número y clase de aminoácidos que se encuentran cerca al motivo DAG en los aislamientos de SCMV, se debe precisamente a la especificidad del

virus por vectores de las regiones específicas de donde fueron muestreados a través de la interacción de la CP y HC. De otro lado, se conoce que los determinantes de especificidad del hospedero pueden encontrarse en la región amino de la CP (Salvador *et al.*, 2008), por lo que también es posible sugerir que la variabilidad encontrada en la región amino de los aislamientos mexicanos de SCMV puede deberse a la especificidad del hospedero. Las diferencias en la región amino terminal han sido también determinantes para emplearlas como criterio molecular en la discriminación de géneros y especies dentro de la familia *Potyviridae* (Adams *et al.*, 2005).

#### **Análisis del alineamiento de secuencias nucleotídicas**

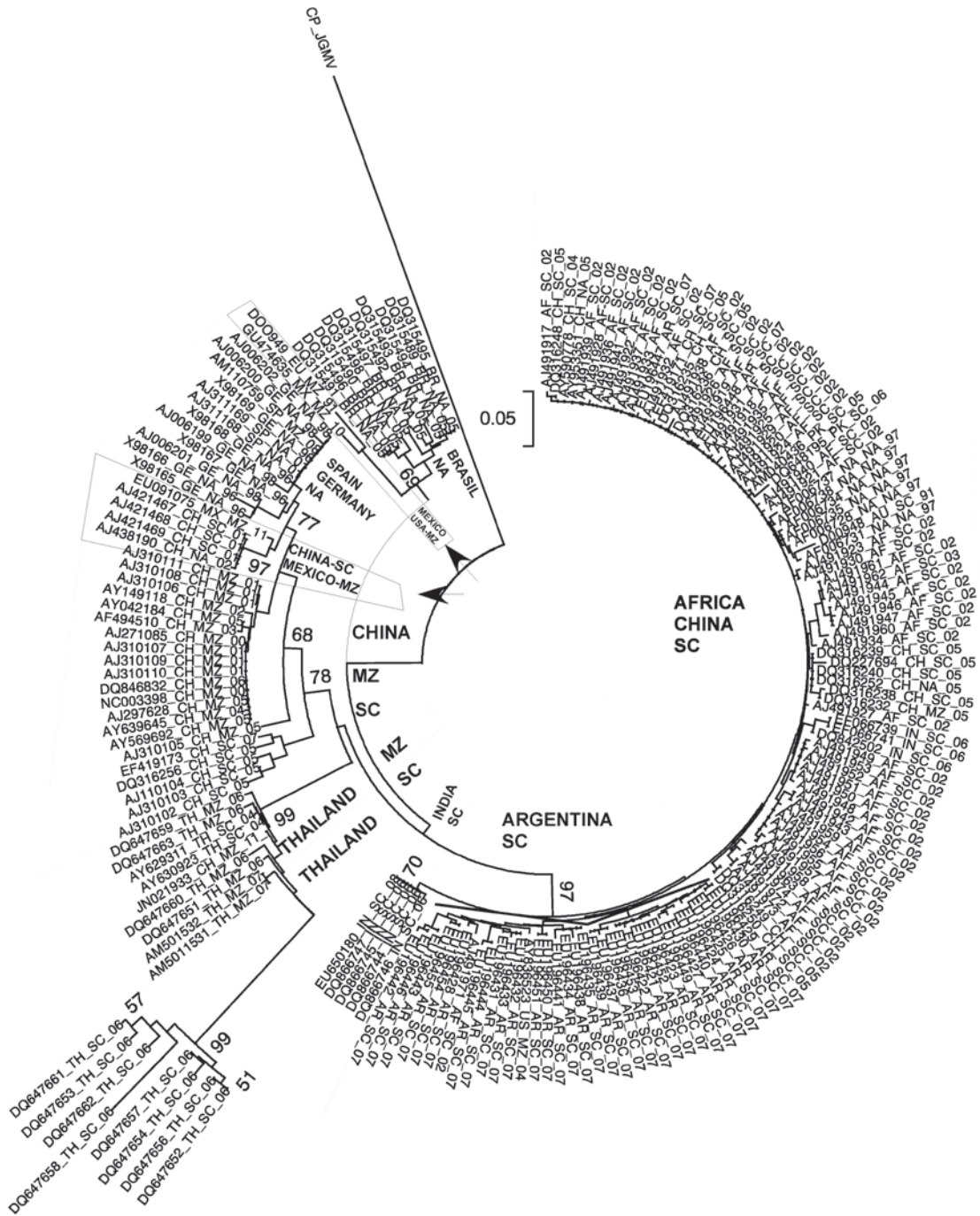
Con el fin de determinar las relaciones filogenéticas entre los aislamientos mexicanos de SCMV se realizó la comparación de secuencias de sus CP con las secuencias CP de SCMV reportadas alrededor del mundo y publicadas en el Banco de Genes (GenBank) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>. La búsqueda y comparación se hizo empleando el programa BLAST del Centro Nacional de Información en Biotecnología, el cual se puede acceder en la dirección electrónica <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. El resultado de la comparación y análisis BLAST con la secuencia completa de la CP del aislamiento mexicano GU474635, indica que la secuencia más relacionada es la identificada con el número de acceso D00949 (Frenkel *et al.*, 1991) la cual comparte el 95% de similitud nucleotídica (E-value 0.0). El análisis indica que la misma secuencia presenta similitudes nucleotídicas del 87% (E-value 0) con secuencias CP de SCMV reportadas en Brasil e identificadas con los números de acceso DQ315492, DQ315498, DQ315496, DQ315495, DQ315494, DQ315490 y DQ315489, y una similitud del 86% (E-value 0.0) con secuencias de CP de SCMV también reportadas en Brasil, identificadas con los números de acceso DQ315493 y DQ315491.

En Frenkel (1991) reportó por primera vez una “diversidad de secuencia inesperada” en la CP de aislamientos de SCMV y MDMV-B de Iowa, EE.UU., que consistía, en el caso de MDMV-B, en una duplicación

de aminoácidos en la región amino. El aislamiento D00949 se obtuvo de campos de maíz dulce en Iowa e inicialmente se designó como Iowa 66-188 (ATCC-PV53) (Hill *et al.*, 1973). De esta manera, la secuencia CP del aislamiento mexicano de SCMV GU474635 está altamente relacionada con aislamientos de EE.UU. Estos aislamientos, junto con los aislamientos de Brasil, tienen la CP más larga de SCMV que se encuentra en las bases de datos, con 984 nucleótidos, lo que se debe posiblemente a un evento de duplicación de aminoácidos (Frenkel *et al.*, 1991). Debido a que no se cuenta con información de otros cistrones de los aislamientos de EE.UU. y Brasil, no es posible determinar si los aislamientos mexicanos se relacionan con estos en el resto del genoma. La presencia de este fragmento particular de nucleótidos en aislamientos de SCMV reportados en diferentes países a lo largo del continente americano sugiere, primero, posibles eventos de recombinación entre estos aislamientos; segundo, el transporte a larga distancia de material infectado/aislamientos virales; y tercero, la necesidad de cuarentenas más apropiadas en la introducción de germoplasmas que puedan contener nuevas variantes virales. La ecología molecular ha revelado que junto con la recombinación, el sinergismo entre especies virales, nuevos vectores y la adaptación al hospedero, el movimiento a larga distancia es uno de los factores responsables en la emergencia de enfermedades tropicales virales graves (Fargette *et al.*, 2006). La restricción en el movimiento de germoplasma entre países puede no ser tan estricta, lo cual hace necesario incrementar las medidas de seguridad para prevenir la introducción de nuevas variantes virales que puedan ocasionar enfermedad.

#### **Relaciones filogenéticas**

El árbol filogenético que se generó a partir del alineamiento de 185 secuencias CP de SCMV (Figura 1) reportadas en diferentes continentes, agrupa a los aislamientos de México, Brasil y el aislamiento D00949 de EE.UU. en un mismo clado, con un valor aceptable de remuestreo del 69%. Este resultado sugiere que los aislamientos D00949 de EE.UU., GU474635 de México y los reportados en Bra-



**Figura 1.** Árbol filogenético con 185 secuencias CP de SCMV con diferentes orígenes geográficos y hospederos. Los aislamientos mexicanos que agrupan en diferentes clados se indican con flechas. Cada taxón se indica con su número de accesoión, país, hospedante y fecha de recolección/publicación. SC = Caña de azúcar. MZ = maíz, NA = no disponible.

sil pueden tener un origen genético común. De otro lado, el aislamiento EU091075, también de origen mexicano, está más relacionado con secuencias provenientes de Alemania y China con similitudes nucleotídicas promedio del 92.5% y del 92.4%, respectivamente, en la

totalidad de la secuencia, de acuerdo con los resultados de comparaciones pareadas empleando el algoritmo Martínez-NW (Martínez, 1983) implementado en el programa MegAlign del paquete DNASTAR. Las diferencias en la composición nucleotídica de las secuencias de

CP de SCMV mexicanos sugiere la presencia de por lo menos dos grupos genéticos diferentes de SCMV que infectan al maíz.

En el árbol filogenético de la Figura 1 se aprecia cómo SCMV agrupa principalmente, según el hospedante del cual fue obtenido, en este caso maíz o caña. En el árbol se distinguen dos grupos principales: uno conformado por aislamientos de SCMV obtenidos principalmente de caña y reportados en África, China, Argentina e India; y otro que reúne principalmente los aislamientos de SCMV que fueron logrados de maíz, con algunos clados que contienen aislamientos obtenidos a partir de caña de azúcar.

### Análisis del alineamiento de aminoácidos

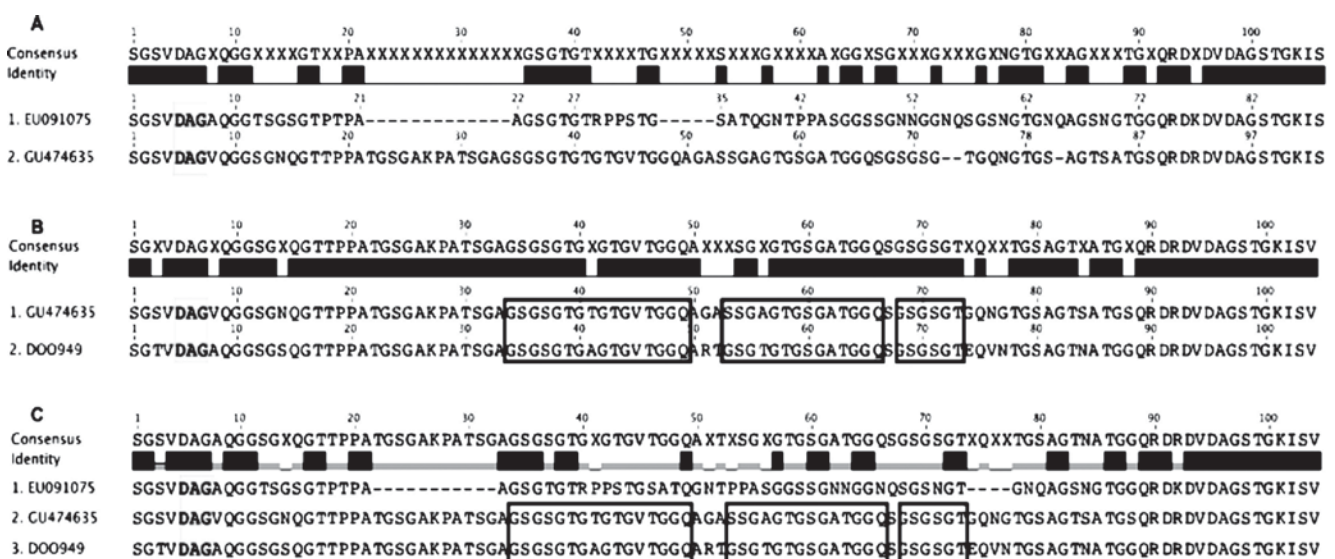
El alineamiento de las CP de secuencias de SCMV mexicanos muestra que las diferencias en los aminoácidos se localizan en la región amino donde se generan dos brechas o gaps en el aislamiento GU474635 (Figura 2A). El alineamiento de las secuencias CP D00949 y la CP del aislamiento GU474635 no genera ningún gap, como se espera dada la igualdad en su longitud y la alta similitud de la secuencia (Figura 2B).

El análisis comparativo de las dos secuencias anteriores reveló que la secuencia

de la CP del aislamiento mexicano GU474635 presenta la duplicación de aminoácidos reportada previamente por Frenkel (Frenkel *et al.*, 1991) y que no lo había sido para otras secuencias. Se pueden apreciar algunas diferencias en la región de estudio debidas posiblemente a mutaciones. En la posición 41 existe un cambio de aminoácido A → T (GCT →ACT, transición) en la posición 53 se presenta el cambio G → T (GGC →AGT/C, transición) y en la posición 56 se presenta el cambio T→A (ACT →GCT, transición) (Figura 2B). Finalmente, el alineamiento de las CP de SCMV mexicanas y el aislamiento genera dos gaps de quince aminoácidos en total, uno entre los aminoácidos 22-32 y otro entre los aminoácidos 74-77 del aislamiento EU091075 (Figura 2C). Este resultado ratifica la mayor relación entre la CP del aislamiento GU474635 y D00949.

### Conclusiones

- El presente estudio revela los diferentes orígenes filogenéticos de aislamientos de SCMV de un mismo país y la estrecha relación de uno de ellos con aislamientos de otros países, lo cual indica poca restricción en el movimiento de germoplasma. Surge



**Figura 2.** Alineamiento de secuencias de aminoácidos de CP de SCMV. El motivo DAG altamente conservado se indica en la caja gris. **A.** Alineamiento de las secuencias CP de aislamientos de SCMV mexicanos. Las cajas negras indican la duplicación de aminoácidos reportada por Frenkel en el aislamiento D00949. **B.** Alineamiento de las secuencias CP de GU474635 y D00949 de EE.UU. **C.** Alineamiento de las secuencias CP de aislamientos mexicanos de SCMV y de USA.

entonces, la necesidad de incrementar las medidas de seguridad para prevenir la introducción de nuevas variantes virales que puedan aumentar el riesgo de enfermedad entre países.

- La diferencia en la composición nucleotídica en los aislamientos mexicanos de SCMV sugiere la presencia de por lo menos dos cepas del virus que infectan el maíz en ese país.
- Únicamente existe el reporte de dos secuencias parciales de SCMV en Colombia que infectan *Elaeis guineensis* (hospedante alterno) (números de acceso AY072882 y AY 072881). La escasez de información acerca de este virus que en Colombia afecta principalmente cultivos en la región del Valle del Cauca y de la región Andina, no permite determinar su relación filogenética con otros aislamientos, ni diseñar estrategias de control basadas en aproximaciones biotecnológicas.

### Referencias

- Adams, M. J.; Antoniw, J. F.; y Fauquet, C. M. 2005. Molecular criteria for genus and species discrimination within the family Potyviridae. *Arch Virol* 150:459 - 479.
- Blanc, S.; Lopez-Moya, J. J.; Wang, R.; Garcia-Lampasona, S.; Thornbury, D. W.; y Pirone, T. P. 1997. A specific interaction between coat protein and helper component correlates with aphid transmission of a potyvirus. *Virology* 231:141 - 147.
- Chen, J.; Chen, J.; y Adams, M. J. 2001. A universal PCR primer to detect members of the Potyviridae and its use to examine the taxonomic status of several members of the family. *Arch Virol* 146:757 - 766.
- Dombrovsky, A.; Huet, H.; Chejanovsky, N.; y Raccah, B. 2005. Aphid transmission of a potyvirus depends on suitability of the helper component and the N terminus of the coat protein. *Arch Virol* 150:287 - 298.
- Fargette, D.; Konate, G.; Fauquet, C.; Muller, E.; Peterschmitt, M.; y Thresh, J. M. 2006. Molecular ecology and emergence of tropical plant viruses. *Annu Rev Phytopathol* 44:235 - 260.
- Fondong, V. N.; y Chen, K. 2011. Genetic variability of East African cassava mosaic Cameroon virus under field and controlled environment conditions. *Virology* 413:275 - 282.
- Frenkel, M. J.; Jilka, J. M.; McKern, N. M.; Strike, P. M.; Clark, J. M., Jr.; Shukla, D. D.; y Ward, C. W. 1991. Unexpected sequence diversity in the amino-terminal ends of the coat proteins of strains of sugarcane mosaic virus. *J Gen Virol* 72( Pt 2):237 - 242.
- Garcia-Arenal, F.; Fraile, A.; y Malpica, J. M. 2001. Variability and genetic structure of plant virus populations. *Annu Rev Phytopathol* 39:157 - 186.
- Ge, L.; Zhang, J.; Zhou, X.; y Li, H. 2007. Genetic structure and population variability of tomato yellow leaf curl China virus. *J Virol* 81:5902 - 5907.
- Glasa, M.; Malinowski, T.; Predajna, L.; Pupola, N.; Dekena, D.; Michalczyk, L.; y Candresse, T. 2011. Sequence variability, recombination analysis, and specific detection of the W strain of Plum pox virus. *Phytopathology* 101:980 - 985.
- Hill, J. H.; Ford, R. E.; y Benner, H. I. 1973. Purification and partial characterization of maize dwarf mosaic virus strain B (sugarcane mosaic virus). *J. Gen Virol* 20:327 - 339.
- Holmes, E. C. 2003. Error thresholds and the constraints to RNA virus evolution. *Trends Microbiol* 11:543 - 546.
- Jeffery, S. H. H.; Adams, B.; Parsons, T. J.; French, R.; C., L. L.; y Jensen, S. G. 1998. Molecular cloning, sequencing, and phylogenetic relationship of a new potyvirus: sugarcane streak mosaic virus, and a reevaluation of the classification of the Potyviridae. *Mol. Phylogenet. Evol.* 10:323 - 332.
- Jridi, C.; Martin, J. F.; Marie-Jeanne, V.; Labonne, G.; y Blanc, S. 2006. Distinct viral populations differentiate and evolve independently in a single perennial host plant. *J. Virol* 80:2349 - 2357.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol Evol* 16:111 - 120.
- Kumar, S.; Nei, M.; Dudley, J.; y Tamura, K. 2008. MEGA: a biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Brief Bioinform* 9:299 - 306.
- Lopez-Moya, J. J.; Wang, R. Y.; y Pirone, T. P. 1999. Context of the coat protein DAG motif affects potyvirus transmissibility by aphids. *J. Gen Virol* 80 (Pt 12):3281 - 3288.
- Martin, S.; Garcia, M. L.; Troisi, A.; Rubio, L.; Legarreta, G.; Grau, O.; Alioto, D.; Moreno, P.; y Guerri, J. 2006. Genetic variation of populations of Citrus psorosis virus. *J. Gen Virol* 87:3097 - 3102.
- Martinez, H. M. 1983. An efficient method for finding repeats in molecular sequences. *Nucleic Acids Res.* 11:4629 - 4634.
- Moreno, I. M.; Malpica, J. M.; Diaz-Pendon, J. A.; Moriones, E.; Fraile, A.; y Garcia-Arenal, F. 2004. Variability and genetic structure of the population of watermelon mosaic virus infecting melon in Spain. *Virology* 318:451 - 460.



- Rommelfanger, D. M.; Offord, C. P.; Dev, J.; Bajzer, Z.; Vile, R. G.; y Dingli, D. 2012. Dynamics of melanoma tumor therapy with vesicular stomatitis virus: explaining the variability in outcomes using mathematical modeling. *Gene Ther.* 19:543 - 549.
- Saitou, N.; y Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4:406 - 425.
- Salvador, B.; Delgadillo, M. O.; Saenz, P.; Garcia, J. A.; y Simon-Mateo, C. 2008. Identification of Plum pox virus Pathogenicity Determinants in Herbaceous and Woody Hosts. *Mol. Plant Microbe Interact.* 21:20 - 29.
- Shukla, D. D.; Tosic, M.; Jilka, J. M.; Ford, R.; Toler, W.; y Langham, A. 1989. Taxonomy of potyvirus infecting maize, sorghum, and sugarcane in Australia and the United States as determined by reactivities of polyclonal antibodies directed towards virus-specific N-termini of coat proteins. *Phytopath.* 79:223 - 229.
- Shukla, W. B.; Shukla, D. D.; y Ward, C. W. 1994. *The Potyviridae*. CAB International. Wallingford, UK.
- Tan, Z.; Wada, Y.; Chen, J.; y Ohshima, K. 2004. Inter- and intralineage recombinants are common in natural populations of turnip mosaic virus. *J. Gen. Virol.* 85:2683 - 2696.
- Yoshida, N.; Shimura, H.; Yamashita, K.; Suzuki, M.; y Masuta, C. 2012. Variability in the P1 gene helps to refine phylogenetic relationships among leek yellow stripe virus isolates from garlic. *Arch. Virol.* 157:147 - 153.
- Zhang, C. L.; Gao, R.; Wang, J.; Zhang, G. M.; Li, X. D.; y Liu, H. T. 2011. Molecular variability of Tobacco vein banding mosaic virus populations. *Virus Res.* 158:188 - 198.