دانش بیماری‌شناسی گیاهی (شاپای ا:۶۲۹۰-۲۵۸۸، شاپای چ: ۹۲۷۰-۲۲۵۱)
سال هشتم، جلد ۲، بهار و تابستان ۱۳۹۸
Plant Pathology Science (eISSN:2588-6290, pISSN:2251-9270)
Vol. 8(2), 2019

Extensional Article

Intracellular Interactions of Geminiviruses in Host Plants

SAEID TABEIN[1], SEYED ALIAKBAR BEHJATNIA✉ [2]

1- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. 2- Department of Plant Protection, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

Received: 15.04.2019 Accepted: 16.09.2019

Tabein S and Behjatnia SAA (2019) Intracellular interactions of geminiviruses in host plants. Plant Pathology Science 8(2):86-101. DOI:10.2982/PPS.8.2.86

Abstract

Geminiviruses (*Geminiviridae* family) with small circular ssDNA genome are encoding just four to seven proteins on virion and complementary-sense strands of their genomes. To have a progressive infection, they are dependent mostly on host cellular machineries and interact with wide range of different host plants factors and processes. Geminiviruses alter the cell cycle in infected plants and they can support replication of viral DNA. They change host gene expression patterns, inhibit cell death pathways, alter macromolecule trafficking and interfere with protein modification to redirect or suppress host defenses and hormones signaling. Geminiviruses encode gene silencing suppressors to interfere with post-transcriptional gene silencing and alter plant DNA methylation and microRNA (miRNA) pathways, often causing developmental abnormalities. Here, the geminiviruses are discussed as one of the most destructive plant viruses and their proteins interactions with host cell factors and pathways are described.

Key Words: Geminivirus, Cell cycle, Protein, ssDNA

✉ Corresponding author: Akbar_behjatnia@hotmail.com

مقاله ترویجی

برهمکنش‌های درون‌سلولی جمینی‌ویروس‌ها در گیاهان میزبان

سعید تابعین [۱] و سید علی‌اکبر بهجت‌نیا ✉ [۲]
۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز
۲- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

دریافت: ۱۳۹۸/۰۱/۲۶ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۲۵

تابعین س و بهجت‌نیا س ع ا (۱۳۹۸) برهمکنش‌های درون‌سلولی جمینی‌ویروس‌ها در گیاهان میزبان. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۸(۲):۱۰۱-۸۶. DOI: 10.2982/PPS.8.2.86

چکیده

جمینی‌ویروس‌ها دارای ژنومِ دی‌ان‌ا تک‌لای حلقوی کوچک با ظرفیت بیان پروتیین محدود هستند. ژنوم این گروه از ویروس‌ها با بیان چهار تا هفت پروتیین و از طریق ایجاد تغییر در فرآیندها و مسیرهای زیستی مختلف در سلول باعث ایجاد آلودگی می‌شوند. از جمله تغییرات به وجود آمده به هنگام آلودگی توسط جمینی‌ویروس‌ها می‌توان به تحریک و تغییر چرخه سلول‌های آلوده برای ورود به فاز تکثیری به منظور حمایت از القای همانندسازی دی‌ان‌ا ویروسی اشاره نمود. جمینی‌ویروس‌ها به منظور تغییر یا متوقف کردن واکنش‌های دفاعی میزبان و مسیرهای پیام‌رسانی هورمون‌ها، الگوی بیان ژن‌های میزبان را تغییر می‌دهند، از مسیرهای مرگ سلولی ممانعت به عمل می‌آورند، رفت‌وآمد مولکول‌های بزرگ را تغییر داده و در مسیرهای پیام‌رسانی سلول و اصلاح پروتیین‌ها مداخله می‌کنند. علاوه‌براین، جمینی‌ویروس‌ها چندین سرکوب‌گر خاموشی ژن را بیان می‌کنند که نحوه تولید آران‌اهای کوچک مداخله‌گر، متیلاسیون دی‌ان‌ا گیاه و مسیرهای میکرو آران‌ا را تغییر می‌دهند و به همین دلیل در اغلب موارد سبب نمو غیر عادی گیاه می‌شوند. در این مقاله علاوه بر معرفی جمینی‌ویروس‌ها، به نقش هر کدام از پروتیین‌های بیان شده توسط ژنوم آنها و نیز برهمکنش این پروتیین‌ها با مسیرها و فرآیندهای مختلف سلول میزبان جهت ایجاد یک آلودگی پایدار، پرداخته می‌شود.

واژگان کلیدی: جمینی‌ویروس، چرخه سلولی، پروتیین، دی‌ان‌ا تک‌لا

مقدمه

اعضای مختلف تیره *Geminiviridae* به عنوان گروهی از مخرب‌ترین عوامل بیماری‌زای گیاهی، محصولات کشاورزی و علف‌های هرز را در سراسر دنیا آلوده نموده و در مناطق مختلف باعث بروز خسارت‌های شدید اقتصادی می‌شوند. در طی دهه‌های اخیر، گسترش این ویروس‌ها به واسطه بروز و گسترش بیوتیپ‌های کارآمد حشرات ناقل آنها از شدت بیشتری برخوردار شده است (Mansoor *et al*. 2006, Navas-Castillo *et al*. 2011) در آفریقا و آسیا که بیماری‌های ناشی از جمینی‌ویروس‌ها کشاورزی را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهند، آلودگی ویروس‌هایی نظیر ویروس رگه‌ای ذرت (*Maize streak virus*, MSV)، ویروس موزاییک آفریقایی کاساوا (*African cassava mosaic virus*, ACMV) و ویروس پیچیدگی برگ پنبه (*Cotton leaf curl virus*, CLCV)، در مواردی تخریب کامل مزارع آلوده را به همراه داشته است (Legg *et al*. 2004, Shepherd *et al*. 2010). همچنین ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV) از عمده‌ترین عوامل محدودکننده تولید این محصول در سراسر دنیا و به خصوص در مناطق با شرایط آب و هوای مدیترانه‌ای محسوب می‌شود (Scholthof *et al*. 2011). امکان انتقال برخی از اعضای تیره *Geminiviridae* از طریق بذر نیز از تأثیر به

✉ مسئول مکاتبه: Akbar_behjatnia@hotmail.com

سزایی در گسترش روزافزون آلودگی‌های ناشی از این ویروس‌ها به مناطق جدید برخوردار بوده است (Anabestani *et al*. 2017, Kil *et al*. 2016, Kim *et al*. 2015).

جمینی‌ویروس‌ها در اغلب موارد به صورت کمپلکس‌های بیماری به وقوع می‌پیوندند که در این حالت گیاهان مجزا به طور همزمان به وسیله چندین ویروس آلوده می‌شوند (Nawaz-ul-Rehman *et al*. 2009). ژنوم این ویروس‌ها به منظور افزایش تنوع می‌تواند سطوح بالایی از جهش، نوترکیبی و بازآرایی (Rearrangment) را متحمل شود (Lima *et al*. 2012). توسعه و تکامل بیوتیپ‌های جدید ناقل که به سموم حشره‌کش مقاوم هستند به خصوص در مورد سفیدبالک *Bemisia tabaci*، به جمینی‌ویروس‌ها این اجازه را داده است که به نواحی جدید هجوم آورده و در ترکیب با یکدیگر، کمپلکس‌های جدید بیماری را به وجود آورند (Lefeuvre *et al*. 2010).

کمیته بین‌المللی نامگذاری ویروس‌ها (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV)، جمینی‌ویروس‌ها را بر اساس سازمان‌دهی ژنوم، دامنه میزبانی و نوع حشرات ناقل در نه جنس *Begomovirus*، *Becurtovirus*، *Curtovirus*، *Capulavirus*، *Eragrovirus*، *Grabluvirus*، *Mastrevirus*، *Topocuvirus* و *Turncurtovirus* طبقه‌بندی کرده است. علاوه‌براین، چند گونه طبقه‌بندی نشده نیز که دارای ویژگی‌های ژنتیکی متمایزی هستند در این تیره جای گرفته است (Adams *et al*. 2013, Brown *et al*. 2012, Varsani *et al*. 2017). ژنوم تمام جمینی‌ویروس‌ها از نوع دی‌انا تک‌لای حلقوی است که در پیکره‌های جورترای (Isometric) دوقلو کپسیدپوشی می‌شوند. همانند سازی ژنوم این ویروس‌ها در هسته سلول‌های آلوده به واسطه تولید دی‌ان‌اهای حدواسط دولای تکثیری به انجام می‌رسد. این ویروس‌ها دارای ترانویسی دوجهته (Bidirectional transcription) هستند و از این طریق چهار تا هفت پروتیین مستقر بر روی هر دو رشته ویروسی و مکمل ژنوم خود را بیان می‌کنند. این چارچوب‌های خوانش به وسیله یک یا دو ناحیه بین ژنی (Intergenic region, IR) از یکدیگر مجزا می‌شوند (Brown *et al*. 2012). ناحیه بین ژنی (بزرگ) دربردارنده محل شروع همانندسازی (Origin of replication, *ori*) است که توالی‌های اختصاصی محل اتصال پروتیین همراه با همانندسازی (رپ، Rep) جمینی‌ویروس‌ها را در بر می‌گیرد. یک ترادف نه نوکلئوتیدی محافظت‌شده در ساختار ساقه-حلقه مستقر در ناحیه بین ژنی اعضای هر جنس، محل مورد نیاز برای شروع فعالیت پروتیین همراه با همانندسازی را فراهم می‌آورد (Behjatnia *et al*. 1998). به استثنای آنزیم پلی‌مراز که در همانندسازی ژنوم جمینی‌ویروس‌ها توسط سلول میزبان تأمین می‌شود، پروتیین‌های بیان‌شده توسط ژنوم آنها، تمامی عملکردهای ضروری برای ویروس را فراهم می‌آورند و برای این منظور با طیف متنوعی از عوامل و مسیرهای درون سلولی میزبان برهمکنش برقرار می‌کنند. جمینی‌ویروس‌ها به صورت طبیعی در سلول‌هایی همانندسازی می‌کنند که از فاز تکثیری خارج شده و از این‌رو فاقد فاکتورهای لازم جهت همانندسازی دی‌انا (از قبیل دی‌انا پلی‌مرازها) هستند. بنابراین، جمینی‌ویروس‌ها برای ایجاد یک آلودگی مؤثر باید چنین محیط‌های نامساعدی را به شرایطی مناسب جهت تکثیر ژنوم خود تغییر دهند. بر این اساس، جمینی‌ویروس‌ها مسیرهای دفاعی گیاه میزبان را به منظور حمایت از ژنوم خود سرکوب کرده و برای تنظیم مراحل رشد و نمو گیاه با مسیرهای مختلفی از جمله مسیرهای هورمونی برهمکنش بر قرار می‌کنند و همچنین از فرآیندهای اصلاح پروتیین میزبان برای بهبود عملکرد پروتیین‌های خود بهره می‌برند (Hanley-Bowdoin *et al*. 2013).

۱-پروتیین‌های جمینی‌ویروس‌ها و عملکرد آنها

ژنوم ویروس‌های تیره *Geminiviridae* یک‌بخشی یا دوبخشی و دارای توانایی بیان کردن ۴ تا ۷ پروتیین است که در همانندسازی، حرکت در گیاه میزبان، انتقال و بیماری‌زایی این ویروس‌ها نقش دارند. برخی پروتیین‌های ویروس نظیر پروتیین همراه با همانندسازی در بین اعضای تیره بسیار حفاظت شده هستند در حالی‌که دیگر پروتیین‌ها نظیر پروتیین پوششی (که اختصاصیت انتقال توسط حشره ناقل را تعیین می‌کند)

خصوصیات نسبتاً همانندی را در سطح اعضای یک جنس به نمایش می‌گذارند. پروتیین‌های بیان‌شده توسط ژنوم جمینی‌ویروس‌ها چندکاره هستند و برخی از آنها کارکردهای مختلفی را برای ویروس‌های متفاوت به نمایش می‌گذارند (Fondong 2013, Varsani *et al*. 2017).

ژنوم جمینی‌ویروس‌ها دارای ترانویسی دوجهته و یک یا دو ناحیه بین ژنی است. ناحیه بین ژنی بزرگتر (در آنهایی که دو ناحیه بین ژنی دارند) حاوی مبدأ شروع همانندسازی و دو پیش‌بر آرانا پلی‌مراز II است که در ترانویسی دوجهته نقش دارند (Hanley-Bowdoin *et al*. 2000). پروتیین پوششی که به وسیله چارچوب خوانش V1 بر روی رشته ویروسی (virion strand) بیان می‌شود، کپسید ویروس را تشکیل می‌دهد و تنها پروتیین ساختاری جمینی‌ویروس‌ها است که تنظیم انتقال توسط ناقل را نیز بر عهده دارد (Briddon *et al*. 1990). این پروتیین در ویروس‌های یک بخشی به عنوان پروتیین رفت‌وآمد هسته‌ای (Nuclear shuttle protein, NSP) نیز عمل می‌کند (Liu *et al*. 2001). پروتیین پوششی در بین اعضای جنس *Mastrevirus*، تعادل بین سطح تجمع دی‌انا تک‌لا و دولا را نیز تنظیم می‌کند (Stenger *et al*. 1991) و در کورتوویروس‌ها و بگموویروس‌ها درگیر حرکت ویروس در گیاه است (Brown *et al*. 2012). تمام جمینی‌ویروس‌های یک‌بخشی در بالادست ژن پروتیین پوششی، چارچوب خوانش کوچکی به نام V2 دارند. پروتیین V2 به عنوان یک پروتیین ضد دفاعی، در سرکوب سازوکار خاموشی ژن پس از ترانویسی میزبان نقش دارد. این پروتیین در جمینی‌ویروس‌های یک‌بخشی حرکت ویروس در گیاه میزبان را نیز تأمین می‌کند. در اعضای جنس *Capulavirus*، بیان چارچوب خوانش V2 از طریق یک آرانای پیک به هم‌چسبان با ترانوشت چارچوب خوانش V4 که منحصراً در ژنوم این جنس حضور دارد، انجام می‌شود (Varsani *et al*. 2017). پروتیین V3 تنها در گونه‌های *Curtovirus* و *Capulavirus* قابل ردیابی است که در تنظیم سطح نسبی دی‌انا تک‌لا و دولا دخالت دارد (Hanley-Bowdoin *et al*. 2000, Varsani *et al*. 2017).

پروتیین همراه با همانندسازی که توسط چارچوب خوانش C1 بر روی رشته مکمل (Complementary strand) بیان می‌شود، عامل اصلی در شروع همانندسازی ژنوم جمینی‌ویروس‌ها است. این پروتیین با ایجاد یک برش در موتیف نه نوکلئوتیدی ساختار ساقه-حلقه ژنوم، محل لازم برای شروع فعالیت آنزیم پلی‌مراز میزبان را برای تکثیر ژنوم ویروس فراهم می‌آورد (Behjatnia *et al*. 1998). بیان این پروتیین تحت کنترل یک پیش‌بر در سمت چپ ناحیه بین ژنی قرار دارد. در جنس‌های *Becurtovirus*، *Capulavirus*، *Grablovirus* و *Mastrevirus*، بیان پروتیین همراه با همانندسازی به واسطه ایجاد یک آرانا پیک به هم‌چسبان متشکل از ترانوشت چارچوب‌های خوانش C1 و C2 صورت می‌پذیرد. در ماستری‌ویروس‌ها چارچوب خوانش C2 بیان‌کننده پروتیین RepA است. این پروتیین به پروتیین رتینوبلاستوما (Retinoblastoma, RBR) گیاه میزبان متصل می‌شود تا چرخه سلولی را تنظیم کند و محیط سلول‌های تمایزیافته را تغییر می‌دهد تا بارگذاری عوامل میزبان را که از همانندسازی دی‌انا ویروس پشتیبانی می‌کنند فراهم نماید (Brown *et al*. 2012). اعضای سایر جنس‌ها، پروتیین همراه با همانندسازی را در یک چارچوب خوانش منفرد بیان می‌کنند و فاقد RepA هستند و نقش RepA برعهده خود رِپ است (Brown *et al*. 2012).

جمینی‌ویروس‌ها سه چارچوب خوانش دیگر را نیز روی رشته مکمل ژنوم بیان می‌کنند. پروتیین فعال‌کننده ترانویسی که توسط چارچوب خوانش C2 بیان می‌شود، در سرکوبگری خاموشی ژن به هنگام ترانویسی و خاموشی ژن پس از ترانویسی عمل می‌کند. این پروتیین همچنین در بگموویروس‌های دوبخشی به عنوان یک فاکتور ترانویسی مورد نیاز برای القای بیان ژن‌های *CP* و *NSP* عمل می‌کند. چارچوب خوانش C3 بیان‌کننده پروتیین افزاینده همانندسازی است و در همانندسازی ویروس دخالت دارد. پروتیین بیان شده توسط چارچوب خوانش C4، یک تعیین‌کننده مهم علایم است که در کنترل چرخه سلولی دخیل است. پروتیین AC4 در بگموویروس‌های دوبخشی می‌تواند پاسخ میزبان به بیان رِپ ویروس را متقابلاً پاسخ دهد. همچنین پروتیین C4 به عنوان یک سرکوبگر خاموشی ژن شناخته شده است و می‌تواند خاموشی ژن پس از ترانویسی را سرکوب کند.

بگوموویروس‌های دوبخشی پروتیین حرکتی و پروتیین رفت‌وآمد هسته‌ای خود را بر روی جز ژنومی DNA-B بیان می‌کنند (Brown *et al*. 2012).

در آلودگی‌های ایجاد شده توسط جمینی‌ویروس‌ها علاوه بر ژنوم ویروس، تعدادی دی‌ان‌ا همراه و وابسته به ویروس نیز در کمپلکس‌های بیماری قابل ردیابی هستند که با بیان پروتیین‌های خود بر ایجاد بیماری اثرگذارند (Tabein and Behjatnia 2014). از این بین، بتاستلایت‌ها با بیان یک پروتیین (βC1) در القای علایم بیماری و نیز سرکوب مسیر خاموشی ژن به هنگام ترانویسی نقش دارند (Saeed *et al*. 2005). از سوی دیگر، آلفاستلایت‌ها نیز پروتیین همراه با همانندسازی خود را بیان می‌کنند که یک پروتیین ضد خاموشی ژن نیز به حساب می‌آید (Briddon *et al*. 2004).

۲-برهمکنش‌های جمینی‌ویروس‌ها- گیاهان میزبان

پروتیین‌های بیان شده توسط ژنوم جمینی‌ویرس‌ها می‌توانند در خلال آلودگی بر سطح بیان ژن‌ها، همانندسازی دی‌ان‌ا و فعال‌سازی چرخه سلولی میزبان اثر بگذارند و مسیرهای کینازی، پیام‌رسانی هورمون، اصلاح پروتیین و دفاع گیاه را دچار تغییر کنند (Hanley-Bowdoin *et al*. 2013). در ادامه به بررسی هر کدام از برهمکنش‌های ذکر شده در خلال فرآیند آلودگی جمینی‌ویروس‌ها پرداخته می شود.

۲-۱- فاکتورهای دخیل در همانندسازی

در جمینی‌ویروس‌ها پروتیین همراه با همانندسازی تنها پروتیین ویروس است که برای همانندسازی ژنوم ویروس ضروری است (Bahjatnia *et al*. 1998). این پروتیین در به کار گرفتن و مونتاژ ریلیزوم (Replisome) ویروس نقشی کلیدی دارد. ریلیزوم، کمپلکسی از پروتیین‌های ویروس و فاکتورهای میزبانی است که در همانندسازی و اصلاح دی‌ان‌ا و دیگر عملکردهای هسته‌ای دخالت دارد. احتمالاً پروتیین افزاینده همانندسازی نیز که سبب افزایش سطح تجمع دی‌ان‌ا بگوموویروس‌ها و کورتوویروس‌ها در گیاه می‌شود و با پروتیین همراه با همانندسازی و فاکتورهای همانندسازی میزبان برهمکنش می‌دهد، جزیی از ریلیزوم جمینی‌ویروس‌ها است (Settlage *et al*. 2005). هر دو پروتیین همراه و افزاینده همانندسازی به عامل پی‌سی‌ان‌ا (Proliferating cell nuclear antigen, PCNA) متصل می‌شوند که یک فاکتور کلیدی در عملکرد دی‌ان‌ا پلی‌مراز سیگمای (DNA polymerase-δ) میزبان است (Castillo *et al*. 2003, Bagewadi *et al*. 2004). عامل پی‌سی‌ان‌ا در بین یوکاریوت‌ها از حفاظت‌شدگی بالایی برخوردار است و با طیفی از پروتیین‌های دخیل در چرخه سلولی، همانندسازی و اصلاح دی‌ان‌ا برهمکنش برقرار می‌کند (Nagar *et al*. 1995, Egelkrout *et al*. 2001). بنابراین به نظر می‌رسد که این برهمکنش پروتیینی به عنوان یکی از مسیرهای اثرگذار جمینی‌ویروس‌ها بر چرخه سلول میزبان عمل می‌کند.

پروتیین همراه با همانندسازی همچنین با زیرواحد بزرگ نوعی از کمپلکس همانندسازی که عامل پی‌سی‌ان‌ا را بر روی دی‌ان‌ا بارگذاری می‌کند و نیز با زیرواحدهای نوعی از پروتیین همانندسازی که به دی‌ان‌اهای تک‌لا متصل می‌شود، برهمکنش می‌دهد (Luque *et al*. 2002). علاوه بر این، پروتیین همراه با همانندسازی به RAD54 نیز متصل می‌شود. این پروتیین در روند نوترکیبی همولوگ در سلول دخالت دارد و بنابراین ممکن است در همانندسازی ویروس به شیوه وابسته به نوترکیبی نیز اثرگذار باشد. به عنوان یک نکته قابل توجه، برهمکنش با RAD54 و عامل پی‌سی‌ان‌ا دارای اثراتی معکوس بر فعالیت پروتیین همراه با همانندسازی در شرایط درون‌شیشه‌ای است که به طور بالقوه می‌توانند دو شیوه همانندسازی ژنوم ویروس را در شرایط درون‌زیوه‌ای تنظیم کنند (Kaliappan *et al*. 2012).

جمینی‌ویروس‌ها معمولاً سلول‌هایی از بافت برگ یا بافت‌های آوندی را آلوده می‌کنند که از مرحله تکثیر چرخه سلولی خارج شده‌اند و در نتیجه دی‌ان‌ا پلی‌مرازهای مورد نیاز برای تکثیر ژنوم را بیان نمی‌کنند. بنابراین، جمینی‌ویروس‌ها به منظور القای ماشین سنتز دی‌ان‌ا سلول باید بر تنظیم‌کننده‌های ترانویسی میزبان اثر بگذارند (Hanley-Bowdoin *et al*. 2013). یک تنظیم‌کننده کلیدی در چرخه سلولی گیاه، پروتیین رتینوبلاستوما

است. همانند پروتیین مشابه در حیوانات، رتینوبلاستومای گیاهی نیز چرخه سلولی، بقای سلول، اختصاصیت و تمایز آن را تحت کنترل خود دارد. به منظور سرکوب بیان ژن‌های بیان کننده پروتیین‌های همانندسازی در حین چرخه سلول، رتینوبلاستوما به فاکتور ترانویسی E2F متصل می‌شود (Arguello-Astorga *et al*. 2004). در حین یک چرخه سلول طبیعی، عملکرد رتینوبلاستوما به وسیله فرآیند فسفوریلاسیون تنظیم می‌شود. فسفوریلاسیون سبب جدا شدن رتینوبلاستوما از فاکتور ترانویسی E2F می‌شود و در نتیجه ترانویسی ژن‌های هدف E2F در فاز G1 ثانویه و آماده‌سازی سلول برای فاز S (تکثیر و دوتایی شدن کروموزوم‌ها) چرخه سلول را به دنبال دارد. در بسیاری از ویروس‌های کوچک دی‌ان‌ادار گیاهی و جانوری، غیرفعال‌سازی رتینوبلاستوما که منجر به ورود به فاز S چرخه سلول می‌شود و آنزیم‌های مورد نیاز برای همانندسازی دی‌ان‌ا را فراهم می‌آورد، یک خصوصیت محافظت شده است. جمینی‌ویروس‌ها از طریق اتصال پروتیین‌های RepA، رِپ و پروتیین افزاینده همانندسازی به رتینوبلاستوما، ایجاد کمپلکس‌های رتینوبلاستوما-فاکتور ترانویسی (RBR-E2F) را مختل می‌سازند و از این طریق منجر به ورود به فاز S چرخه سلول و مهیا شدن آنزیم‌های تکثیری مورد نیاز برای همانندسازی ژنوم خود می‌شوند (Kong *et al*. 2000, Desvoyes *et al*. 2006).

پروتیین همراه با همانندسازی اولین پروتیین جمینی‌ویروس‌ها است که به هنگام آلودگی سلول میزبان بیان می‌شود و شروع تکثیر ژنوم را فراهم می‌آورد. از طرفی، با در نظر گرفتن برهمکنش‌های متعددی که این پروتیین با عوامل مختلف همانندسازی دی‌ان‌ا در سلول میزبان برقرار می‌کند، می‌توان اظهار داشت که این پروتیین می‌تواند مهم‌ترین پروتیین جمینی‌ویروس‌ها در القا و تنظیم همانندسازی ژنوم آنها باشد.

۲-۲- مسیرهای کینازی

پروتیین کینازها (Protein kinases) از طریق برهمکنش با مسیرهای پیام‌رسانی هورمون‌ها در شناسایی بیمارگرها و واکنش‌های دفاعی حائز اهمیت هستند و علاوه بر این در رشد و نمو گیاه نیز از نقش‌های حیاتی برخوردارند. جمینی‌ویروس‌ها به منظور به کار گرفتن فرآیندهای میزبان در جهت گسترش آلودگی و مداخله با واکنش‌های دفاعی، با مسیرهای کینازی مختلفی واکنش می‌دهند که عبارتند از:

۲-۲-۱- کینازهای شبه گیرنده (Receptor-like kinases): برخی از کینازهای شبه گیرنده میزبان، بیمارگرهای ویروسی را شناسایی می‌کنند و منجر به راه‌اندازی یک سری واکنش‌های دفاعی ضدویروس در گیاه می‌شوند. بهترین نمونه از کینازهای شبه گیرنده شناخته شده در ارتباط با جمینی‌ویروس‌ها سه کیناز تکراری غنی از لوسین (Leucine rich repeat, LRR) هستند که به عنوان کینازهای واکنش‌دهنده با پروتیین رفت‌وآمد هسته‌ای (با نام‌های NIK1، NIK2 و NIK3، NSP interacting kinase) شناخته می‌شوند. این کینازها، پروتیین‌هایی غشایی هستند که دچار فسفوریلاسیون خودی شده و قادر به افزودن گروه‌های فسفات (فسفوریله کردن) به مواد زمینه‌ای خارجی نیز هستند. پروتیین رفت‌وآمد هسته‌ای جمینی‌ویروس‌ها به دامانه کینازی این پروتیین‌ها متصل می‌شود و با فسفوریلاسیون خودی آنها به عنوان فرآیندی که برای فعالیت کینازی مورد نیاز است، مداخله می‌کند (Fontes *et al*. 2004, Santos *et al*. 2009). بنابراین، کینازهای واکنش‌دهنده با پروتیین رفت‌وآمد هسته‌ای قادر به فسفوریله کردن تغییرگر (Effector) پایین‌دستی خود (پروتیین ریبوزومی rpL 10A) و نیز تغییر موقعیت به سمت هسته یعنی محلی که با آلودگی ویروس مداخله می‌کنند، نخواهند بود (Rocha *et al*. 2008, Carvalho *et al*. 2008). به همین دلیل برهمکنش پروتیین رفت‌وآمد هسته‌ای جمینی‌ویروس با این گروه از کینازها، سبب محافظت از تکثیر ویروس در طی دوره آلودگی می‌شود.

برهمکنش پروتیین C4 جمینی‌ویروس‌ها با کینازهای شبه گیرنده موجود در غشای پلاسمایی سلول‌های میزبان، در فرآیند انتقال سیگنال‌های بین سلولی مداخله می‌کند (Zeng *et al*. 2018). این نتایج می‌تواند سازوکار جمینی‌ویروس‌ها در ایجاد آلودگی‌های سیستمیک در گیاه میزبان را مشخص کند و چگونگی انتقال سیگنال‌های بین سلولی در زمان بروز مقاومت یا گسترش آلودگی را تعیین نماید.

۲-۲-۲- آبشار کینیازی *GRIK–SNRK1*: پروتیین همراه با همانندسازی با دو پروتیین کیناز نزدیک به هم به نام کینازهای برهمکنش‌دهنده با پروتیین همراه با همانندسازی جمینی‌ویروس برهمکنش می‌دهد (Kong and Hanley-Bowdoin 2002, Shen and Hanley-Bowdoin 2006). مسیر یوبیکوئیتین پروتئازوم (Ubiquitin proteasome)، تنظیم‌کننده سطح بیان این کینازها است که در بافت‌های جوان گیاهی، سلول‌های رشد یافته در محیط کشت و سلول‌های آلوده به جمینی‌ویروس‌ها تجمع دارند. کینازهای برهمکنش‌دهنده با پروتیین همراه با همانندسازی جمینی‌ویروس‌ها، فعال‌کننده‌های بالادستی گروه دیگری از پروتیین کینازها (کیناز SNRK1) هستند که به عنوان تنظیم‌کننده‌های کلیدی در متابولیسم گیاهی، نمو و واکنش به تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاه به ایفای نقش می‌پردازند (Shen *et al*. 2009). کینازهای مذکور از گروه کینازهای سرین/ترئونین است که در واکنش به تنش‌های محیطی فعال می‌شوند و مسیرهای بیوسنتزی مصرف‌کننده انرژی را متوقف و از سوی دیگر سیستم‌های تولیدکننده آدنوزین مونو فسفات را فعال می‌کنند. این فرآیند ممکن است انرژی لازم برای همانندسازی ژنوم ویروس را تأمین کند اما نقش دقیق این آبشار کینازی در بروز بیماری ناشی از جمینی‌ویروس‌ها چندان مشخص نیست (Hanley-Bowdoin *et al*. 2013).

پروتیین فعال‌کننده ترانویسی جمینی‌ویروس‌ها و نیز پروتیین βC1 بیان‌شده توسط بتاستلایت نیز دارای توانایی اتصال به پروتیین کیناز SNRK1 هستند. فسفوریلاسیون پروتیین βC1 توسط این گروه از کینازها سبب به تأخیر افتادن بروز آلودگی توسط بگموویروس کمکی می‌شود (Hao *et al*. 2003, Shen *et al*. 2011). این موضوع می‌تواند نشان‌دهنده تداخل فسفوریلاسیون βC1 توسط SNRK1 در فرآیند آلودگی باشد.

۲-۲-۳- *Shaggy related kinases*: این کینازها به واسطه برهمکنش‌های مختلف با مسیر پیام‌رسانی براسینوستروئید در فرآیندهای نموی متنوعی از جمله تقسیم سلولی و طویل شدن سلول دخالت دارند. پروتیین C4 جمینی‌ویروس‌ها با این گروه از کینازها برهمکنش می‌دهد به نحوی که در جمینی‌ویروس‌های یک و دوبخشی، به ترتیب سبب سرکوب و القای بیان ژن‌های واکنش‌دهنده به براسینوستروئید می‌شوند (Piroux *et al*. 2007, Dogra *et al*. 2009). این در حالی است که سرکوب بیان این کینازها در گیاه میزبان سبب تأخیر در ایجاد آلودگی می‌گردد (Lozano-Duran *et al*. 2011a).

۲-۳- مسیرهای پیام‌رسانی هورمون‌های گیاهی

جمینی‌ویروس‌ها با طیفی از مسیرهای هورمونی گیاه میزبان از جمله مسیرهای اسیدسالیسیلیک، اتیلن، اسید جاسمونیک و مسیر براسینوستروئید برهمکنش می‌دهند. برخی از این ویروس‌ها، مسیرهای اسید سالیسیلیک و اتیلن را فعال می‌کنند، مسیرهایی که هر دو در واکنش دفاعی میزبان مشارکت دارند (Ascencio-Ibanez *et al*. 2008). بر همین اساس گیاهانی که سطوح اسید سالیسیلیک در آنها افزایش یافته و یا دارای سطح بالایی از بیان اجزای دخیل در این مسیر هستند، در برابر آلودگی مقاوم خواهند بود (Chen *et al*. 2010, Garcia-Neria *et al*. 2011). ژن‌های موجود در مسیر اسید جاسمونیک به طور معمول در خلال آلودگی جمینی‌ویروس‌ها سرکوب می‌شوند (Ascencio-Ibanez *et al*. 2008). بیان برخی از پروتیین‌های ویروس در گیاه می‌تواند مسیر اسید جاسمونیک را فعال یا سرکوب کند اما با این وجود، تغییرات زیست‌شناختی ناشی از بیان این پروتیین‌ها همچنان ناشناخته باقی مانده است. جمینی‌ویروس‌ها همچنین با مسیرهای سیتوکینین و اکسین نیز برهمکنش می‌دهند، هورمون‌هایی که تکثیر سلولی را افزایش داده و فرآیند تمایز گیاه را تنظیم می‌نمایند (Lozano-Duran *et al*. 2011b, Soitamo *et al*. 2012). در آلودگی همزمان بتاستلایت و بگموویروس کمکی، پروتیین بیان‌شده توسط بتاستلایت سبب سرکوب مسیر دفاعی اسید جاسمونیک در گیاه می‌شود. افزایش و کاهش فعالیت این مسیر می‌تواند سبب سرکوب یا افزایش فعالیت سفیدبالک ناقل بیماری شود (Zhang *et al*. 2012). بنابراین، سرکوب این مسیر دفاعی توسط بتاسلایت سبب افزایش جمعیت ناقل و قدرت انتقال کمپلکس بیماری خواهد شد.

۲-۴- مسیرهای اصلاح پروتیین

اصلاح مولکول‌های پروتیین توسط یوبیکوئیتین (Ubiquitylation) و مولکول‌های شبه یوبیکوئیتین، وقایع پس از ترجمه‌ای هستند که عملکرد پروتیین‌ها را تعدیل نموده و بسیاری از فرآیندهای گیاهی همانند نمو، چرخه سلولی و واکنش به تنش‌های زیستی و غیرزیستی را تنظیم می‌کنند. مولکول یوبیکوئیتین از طریق یک سری وقایع پشت سر هم آنزیمی (شامل فعالیت آنزیم فعال یوبیکوئیتین E1، آنزیم اتصال به یوبیکوئیتین E2 و لیگاز یوبیکوئیتینی E3) به صورت کووالانت به دنباله‌های لایزینی موجود در پروتیین هدف متصل می‌گردد. فرآیند Sumoylation نیز که پروتیین‌های تعدیل‌کننده شبه یوبیکوئیتینی کوچکی (SUMO، سومو) را به پروتیین هدف خود متصل می‌نماید به گروه آنزیم‌های اختصاصی خود نیازمند است. اتصال چند مولکول یوبیکوئیتین به پروتیین هدف، آنها را برای تخریب به سمت کمپلکس پروتئازوم پیش می‌برد. در حالی‌که اتصال یک مولکول یوبیکوئیتین می‌تواند فعالیت‌های پروتیین، الگوهای برهمکنش آن و یا موقعیت استقرار درون سلولی پروتیین‌ها را تغییر دهد (Castro *et al*. 2012, Marino *et al*. 2012). برخی از پروتیین‌های ویروسی به وسیله پروتیین‌های یوبیکوئیتین یا شبه یوبیکوئیتین اصلاح می‌شوند و برخی می‌توانند به عنوان آنزیم‌هایی در مسیر اتصال یوبیکوئیتین عمل کنند (Alcaide-Loridan and Jupin 2012). جمینی‌ویروس‌ها به منظور دست یافتن به یک آلودگی موفق، سازوکارهای اتصال یوبیکوئیتین و مولکول‌های شبه یوبیکوئیتین را دچار تغییر می‌کنند. پروتیین بیان‌شده توسط بتاستلایت، به آنزیم E2 متصل شده و تجمع کلی پروتیین‌هایی که چند مولکول یوبیکوئیتین به آنها متصل شده است را کاهش می‌دهد و از این طریق سبب ایجاد علایم شدید در میزبان می‌شود (Bachmair *et al*. 1990, Eini *et al*. 2009). پروتیین‌های C2 و C4 نیز از طریق برهمکنش با اجزای مختلف مسیر یوبیکوئیتیلاسیون به ترتیب سبب تغییر در واکنش‌های هورمونی و القای تکثیر سلول‌های گیاهی می‌شوند (Lai *et al*. 2009, Lozano-Duran *et al*. 2011b). پروتیین همراه با همانندسازی نیز با آنزیم E2 متصل‌شونده به گروه سومو برهمکنش می‌دهد و به نظر می‌رسد که این برهمکنش برای ایجاد آلودگی توسط جمینی‌ویروس‌ها، امری ضروری است (Castillo *et al*. 2004).

۲-۵-مسیرهای خاموشی ژن در گیاه

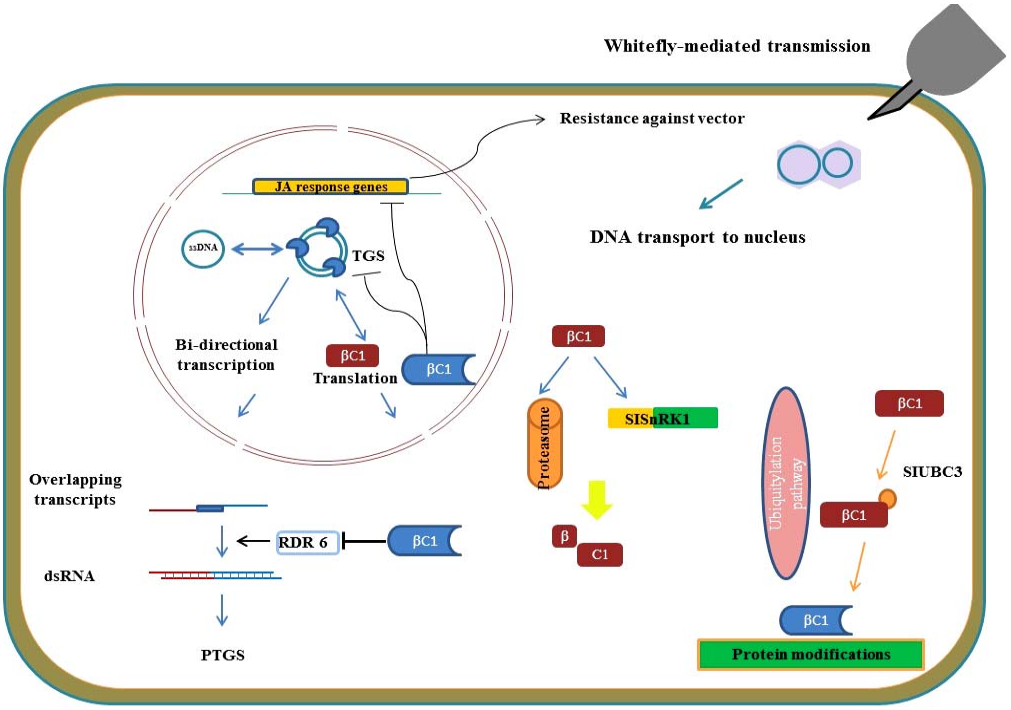
خاموشی ژن (آرانا)، یک واکنش دفاعی ضدویروسی و مسیر تنظیم بیان ژن در سلول‌های یوکاریوتی است که در سلول‌های گیاهی از آران‌های کوچک مداخله‌گر (small interfering RNA, siRNA) برای هدف قرار دادن ژنوم ویروس‌ها و ترانسپوزون‌ها استفاده می‌کند (Pooggin 2018). ویروس‌ها این واکنش را با استفاده از پروتیین‌های ضدخاموشی بیان شده توسط ژنوم خود سرکوب می‌کنند. پروتیین‌هایی که سرکوب‌گرهای ویروسی خاموشی آرانا (Viral suppressor of RNA silencing, VSRs) نامیده می‌شوند، در مراحل مختلفی از واکنش خاموشی آرانا مداخله می‌کنند. موقعیت درون‌هسته‌ای جمینی‌ویروس‌ها و شباهت ژن‌های آنها به تراریخت‌های مهندسی شده که دارای پیش‌برهایی کوچک با فعالیت بالا بوده و اغلب فاقد اینترون هستند، این ویروس‌ها را به فرصت‌های منحصر به فردی به منظور فهم چگونگی شناسایی همانندسازی ژنوم گیاهان و دفاع آنها در برابر دی‌ان‌های بیگانه تبدیل کرده است (Hanley-Bowdoin *et al*. 2013).

پژوهش‌ها اثر پروتیین‌های جمینی‌ویروس‌ها را در سرکوب مسیرهای خاموشی آرانا به اثبات رسانده است. جمینی‌ویروس‌ها بر خلاف ویروس‌های آران‌ادار فاقد حدواسط‌های آرانا دولا هستند. با وجود این در سلول‌های آلوده، پروتیین‌های شبه دایسر بر علیه این جمینی‌ویروس‌ها فعال می‌شوند. در مورد جمینی‌ویروس‌ها ترانویسی دو جهته دی‌ان‌های حدواسط دولا در هسته (Raja *et al*. 2009). ترانویسی به شیوه پیوسته‌خوانی نابجا (Shivaprasad *et al*. 2005) و وجود چارچوب‌های خوانش نابجا منجر به ایجاد ترانوشت‌های همپوشان ناقص می‌شود (Ramesh *et al*. 2017) پس از ورود این ترانوشت‌ها به سیتوپلاسم، آران‌اپلی‌مراز میزبانی آنها را به آران‌های دولای کاملی تبدیل می‌کند که کلید راه‌اندازی سازوکار خاموشی ژن پس از ترانویسی محسوب می‌شوند (Shrama and Ikegami 2008). پروتیین بیان‌شده توسط بتاستلایت‌ها (βC1) از طریق

جلوگیری از تولید آرانا پلی‌مراز دخیل در این فرآیند (RDR6)، سبب سرکوب خاموشی ژن پس از ترانویسی می‌شود. همچنین پروتیین βC1 اثری منفی بر اس-آدنوزیل هموسیستئین هیدرولاز (S-adenosyl homocystein hydrolase) به جای می‌گذارد، عاملی که مسئول تولید SAM (S-adenosyl methionine) (عامل دهنده گروه متیل و کوفاکتور آنزیم متیل ترانسفراز) به حساب می‌آید. از اینرو، پروتیین βC1 با جلوگیری از چرخه متیلاسیون سبب سرکوب سازوکار خاموشی ژن به هنگام ترانویسی و پایداری کمپلکس‌های جمینی‌ویروس/بتاستلایت نیز می‌شود (Yang *et al*. 2011). پروتیین C4 بیان‌شده توسط جیمین‌ویروس‌های مختلف نیز توانایی اتصال به توالی‌های آرانا و دی‌انا کوچک را داراست. همچنین قدرت سرکوب‌گری این پروتیین در مسیر خاموشی ژن پس از ترانویسی نیز به خصوص در مورد بگوموویروس‌های مختلف به اثبات رسیده است (Saeed *et al*. 2015, Vanitharani *et al*. 2004). پروتیین‌های TrAP/C2 جمینی‌ویروس نیز با آدنوزین کیناز (Adenosine kinase, ADK) میزبانی برهمکنش داده و آن را غیر فعال می‌سازند (Wang *et al*. 2005). این مولکول کیناز در حالت طبیعی برای سنتز SAM مورد نیاز است، بنابراین غیرفعال‌سازی آن بر چرخه متیل اثر می‌گذارد و در نتیجه سبب کاهش متیلاسیون دی‌انا و سرکوب خاموشی ژنوم جمینی‌ویروس‌ها به هنگام ترانویسی خواهد شد(شکل ۱). نقش سرکوب‌گری پروتیین V2 در آلودگی بگوموویروس یک‌بخشی پیچیدگی برگ پاپایا (*Papaya leaf curl virus*, PaLCuV) در هر دو مسیر خاموشی ژن به هنگام ترانویسی و نیز خاموشی ژن پس از ترانویسی با استفاده از ناقلین GFP و مطالعات بیان گذرا (Transient expression) به اثبات رسیده است (Mubin *et al*. 2018). در مورد جمینی‌ویروس سیب (Apple geminivirus, AGV) نیز که توانایی آلوده‌کنندگی آن به تازگی در درختان سیب گزارش شده است، پروتیین V2 علاوه بر فعالیت به عنوان یک تعیین‌کننده علایم در سرکوب خاموشی ژن پس از ترانویسی نیز عمل می‌کند (Zhan *et al*. 2018). در تولید گیاهان تراریخت مقاوم به جمینی‌ویروس‌ها نیز به طور معمول از اصول خاموشی ژن پس از ترانویسی استفاده می‌شود به این صورت که توالی‌های آرانا دولا همسان با توالی ژنوم ویروس در گیاه سنتز می‌شود. بنابراین در زمان ورود ویروس، سازوکار خاموشی ژن پس از ترانویسی امکان شناسایی ترانوشت‌های ویروس و سرکوب هر چه بیشتر بیان ژن‌های ویروس را خواهد داشت. با وجود این، در تولید گیاهان تراریخت مقاوم به جمینی‌ویروس‌ها به این شیوه تردیدهایی وجود دارد که کارآیی و ایمنی این روش را با چالش مواجه کرده است. زمانی‌که برای اولین بار لاین‌های گوجه‌فرنگی تراریخت دربردارنده توالی ژن پروتیین همراه با همانندسازی TYLCV، تحت شرایط مزرعه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفتند نشان داده شد که پروفایل ترانوشت‌های ژن‌های میزبان نیز پس از چند نسل تحت تأثیر سازه بیان‌کننده آرانا دولا ویروس قرار گرفتند. این موضوع خود باعث ایجاد فنوتیپ‌های غیرطبیعی در بوته‌های گوجه‌فرنگی شد (Fuentes *et al*. 2016). علاوه‌براین، ایجاد سازه‌های مقاومت در گیاهان باعث تحریک جمعیت جمینی‌ویروس‌ها به سمت غالب شدن سویه‌هایی می‌شود که از همانندی کمتری با توالی آران‌اهای دولای بیان شده توسط سازه‌های مقاومت، برخوردار باشند (Fuentes *et al*. 2016, Mehta *et al*. 2018).

نتیجه‌گیری

جمینی‌ویروس‌ها به دلیل ژنوم کوچک‌شان تنها چهار تا هفت پروتیین را بیان می‌کنند. این پروتیین‌ها، پروتیین هایی چندکاره هستند که تا حدودی محدودیت‌های این ژنوم کوچک را جبران کرده‌اند. بسیاری از برهمکنش‌های درون سلولی این ویروس‌ها با گیاهان میزبان، مانند تاثیر بر فاکتورهای همانندسازی میزبان، مسیرهای کینازی، مسیرهای پیام‌رسانی هورمون‌های گیاهی، مسیرهای اصلاح پروتیین و مسیرهای خاموشی ژن در گیاه شناخته شده‌اند. یافته‌های به‌دست آمده از این پژوهش‌ها فرصت‌های جدیدی را در طراحی روش‌های مدیریت جمینی‌ویروس‌های انگل گیاهان فراهم آورده‌اند.



شکل ۱. مولکول‌های بتاستلایت همراه با پیکره‌های دوقلوی بگوموویروس‌ها، به هنگام انتقال توسط مگس سفید به سلول‌های گیاهی وارد می‌شوند. بتاستلایت‌ها از طریق تأثیرگذاری بر مسیرها و سازوکارهای مختلف در سلول، منجر به بیان علایم آلودگی ویروس‌های همراهِ خود می‌شوند. پروتیین βC1 کد شده توسط این مولکول‌ها، از طریق جلوگیری از بارگذاری گروه‌های متیل بر روی دی‌ان‌ای‌های دوررشته‌ای در هسته سلول‌های آلوده منجر به سرکوب مسیر خاموشی ژن به هنگام ترانویسی می‌شود. این پروتیین همچنین از طریق ممانعت از فعالیت آنزیم آران‌ا پلی‌مراز میزبانی (RDR6) منجر به جلوگیری از سنتز مولکول‌های آران‌ا دولا شده و مسیر خاموشی ژن پس از ترانویسی را در سیتوپلاسم سرکوب می‌نماید. اثرگذاری مسیرهای پروتئازوم و یوبیکوئیتیناسیون بر پروتیین βC1 به ترتیب سبب تخریب و اصلاح ساختار این پروتیین در سلول‌های آلوده می‌شود. TGS: خاموشی به هنگام ترانویسی، PTGS: خاموشی پس از ترانویسی.

Figure 1. Betasatellites, encapsidated in twinned particles of helper begomoviruses, are transmited by whitefly. After transport of viral ssDNA molecules to the nucleus, dsDNA intermediates are produced. Methyl groups binds to dsDNAs and represses their transcription, referred as TGS. βC1 through effect on SAHH (methyl donor groups) leads to suppression of TGS. On the other hands, suppression of JA responsing specific genes leads to susceptibility against whitefly. RDR6 is a host RNA polymerase that converts overlapping transcripts of geminiviruses to dsRNA and initiates PTGS. βC1 interacts with cellular down-regulators of RDR6 (Nbrgs-CaM) and inhibits function of this RNA polymerase resulting to suppression of PTGS. In the cytoplasm, βC1 interacts with ubiquitin conjugating enzyme, SIUBC3, that necessary for induction of symptoms and functions. SISnRK1 and proteasome complex would be able to suppress βC1 function through disrupt of protein structure. TGS: transcriptional gene silencing, PTGS: post-transcriptional gene silencing.

References منابع

1. Adams MJ, King AM and Carstens EB (2013) Ratification vote on taxonomic proposals to International Committee on Taxonomy of Viruses. Archives of Virology 158:2023-2030.
2. Alcaide-Loridan C and Jupin I (2012) Ubiquitin and plant viruses, let’s play together! Plant Physiology 160:72–82.

3. Anabestani A, Behjatnia SAA, Izadpanah K, Tabein S and Accotto GP (2017) Seed transmission of Beet curly top virus and Beet curly top Iran virus in a local cultivar of petunia in Iran. Viruses 9:299-311.
4. Arguello-Astorga G, Lopez-Ochoa L, Kong LJ, Orozco BM, Settlage SB and Hanley-Bowdoin L (2004) A novel motif in geminivirus replication proteins interacts with the plant retinoblastoma-related protein. Journal of Virology 78:4817-4826.
5. Ascencio-Ibanez JT, Sozzani R, Lee TJ, Chu TM, Wolfinger RD, Cella R and Hanley-Bowdoin L (2008) Global analysis of *Arabidopsis* gene expression uncovers a complex array of changes impacting pathogen response and cell cycle during geminivirus infection. Plant Physiology 148:436–454.
6. Bachmair A, Becker F, Masterson RV and Schell J (1990) Perturbation of the ubiquitin system causes leaf curling, vascular tissue alterations and necrotic lesions in a higher plant. EMBO Journal 9:4543–4549.
7. Bagewadi B, Chen S, Lal SK, Choudhury NR and Mukherjee SK (2004) PCNA interacts with Indian mung bean yellow mosaic virus rep and downregulates Rep activity. Journal of Virology 78:11890–11903.
8. Behjatnia SAA, Dry IB and Rezaian MA (1998) Identification of the replication-associated protein binding domain within the intergenic region of tomato leaf curl geminivirus. Nucleic Acids Research 26:925–931.
9. Briddon RW, Bull SE, Amin I, Mansoor S, Bedford ID, Rishi N, Siwatch SS, Zafar Y, Abdel-salam AM and Markham PG (2004) Diversity of DNA 1: A satellite molecule-like molecule associated with monopartite begomovirus-DNA β complexes. Virology 324:462-74.
10. Briddon RW, Pinner MS, Stanley J and Markham PG (1990) Geminivirus coat protein replacement alters insect specificity. Virology 177: 85–94.
11. Brown JK, Fauquet CM, Briddon RW, Zerbini M, Moriones E and Navas-Castillo J (2012) *Geminiviridae*. Pp. 351-373. In: Virus taxonomy, ninth report of the international committee on taxonomy of viruses. AMQ King MJ Adams EB. Carstens and EJLefkowitz (Eds.). London, Elsevier/Academic Press.
12. Carvalho CM, Machado JP, Zerbini FM and Fontes EPB (2008a) NSP-interacting GTPase: a cytosolic protein as cofactor for nuclear shuttle proteins. Plant Signalling and Behavior 3:752-754.
13. Castillo AG, Collinet D, Deret S, Kashoggi A and Bejarano ER (2003) Dual interaction of plant PCNA with geminivirus replication accessory protein (REn) and viral replication protein (Rep). Virology 312:381-394.
14. Castillo A. G., Kong L. J., Hanley-Bowdoin L. and Bejarano E. R. 2004. Interaction between a Geminivirus Replication Protein and the Plant Sumoylation System. Journal of Virology 78:2758-2769.
15. Castro PH, Tavares RM, Bejarano ER and Azevedo H (2012) SUMO, a heavyweight player in plant abiotic stress responses. Cell and Molecular Life Sciences 69:3269–3283.

16. Chen H, Zhang Z, Teng K, Lai J, Zhang Y, Huang Y, Li Y, Liang L, Wang Y, Chu C, Guo H (2010) Up‐regulation of LSB1/GDU3 affects geminivirus infection by activating the salicylic acid pathway. Plant Journal 62:12–23.
17. Desvoyes B, Ramirez-Parra E, Xie Q, Chua NH and Gutierrez C (2006) Cell type-specific role of the retinoblastoma/E2F pathway during *Arabidopsis* leaf development. Plant Physiology 140:67–80.
18. Dogra SC, Eini O, Rezaian MA and Randles JW (2009) A novel shaggy-like kinase interacts with the Tomato leaf curl virus pathogenicity determinant C4 protein. Plant Molecular Biology 71:25-38.
19. Egelkrout EM, Robertson D and Hanley-Bowdoin L (2001) Proliferating cell nuclear antigen transcription is repressed through an E2F consensus element and activated by geminivirus infection in mature leaves. Plant Cell 13:1437–1452.
20. Eini O, Dogra S, Selth LA, Dry IB, Randles JW and Rezaian MA (2009) Interaction with a Host Ubiquitin-Conjugating Enzyme Is Required for the Pathogenicity of a Geminiviral DNA β Satellite. Molecular Plant Microbe Interaction 22:737-746.
21. Etessami P, Saunders K, Watts J and Stanley J (1991) Mutational analysis of complementary-sense genes of *African cassava mosaic virus* DNA-A. Journal of General Virology 72:1005–1012.
22. Fondong VN (2013) Geminivirus protein structure and function. Molecular Plant Pathology 14:635-649.
23. Fontes EP, Santos AA, Luz DF, Waclawovsky AJ and Chory J (2004) The geminivirus nuclear shuttle protein is a virulence factor that suppresses transmembrane receptor kinase activity. Genes and Development 18:2545–2556.
24. Fuentes A, Carlos N, Ruiz Y, Callard D, Sánchez Y, Ochagavía ME, Seguin J, Malpica-López N, Hohn T, Lecca MR, Pérez R, Doreste V, Rehrauer H, Farinelli L, Pujol M. and Pooggin MM (2016) Field trial and molecular characterization of rnai-transgenic tomato plants that exhibit resistance to Tomato yellow leaf curl geminivirus. Molecular Plant Microbe Interaction 29:197-209.
25. Garcia-Neria MA and Rivera-Bustamante RF (2011) Characterization of geminivirus resistance in an accession of *Capsicum chinense* Jacq. Molecular Plant Microbe Interaction 24:172–182.
26. Hanley-Bowdoin L, Bejarno ER, Robertson D and Mansoor S (2013) Geminiviruses: masters at redirecting and reprogramming plant processes. Nature Reviews Microbiology 11:777-788.
27. Hanley-Bowdoin L, Settlage SB, Orozco BM, Nagar S and Robertson D (2000) Geminiviruses: models for plant DNA replication, transcription, and cell cycle regulation. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology 35:105–10.
28. Hao L, Wang H, Sunter G and Bisaro DM (2003) Geminivirus AL2 and L2 proteins interact with and inactivate SNF1 kinase. The Plant Cell 15:1034-1048.

29. Kaliappan K, Choudhury NR, Suyal G and Mukherjee SK (2012) A novel role for RAD54: this host protein modulates geminiviral DNA replication. The journal of the federation of America Societies for Experimental Biology 26:1142-1160.
30. Kil EJ, Kim S, Lee YJ, Byuan HS, Park J, Seo H., Kim CS, Shim JK, Lee JH, Kim J K, Lee KY, Choi HS and Lee S (2016) Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV-IL): a seed transmissible geminivirus in tomatoes. Scientific Reports 6:19013.
31. Kim J, Kil EJ, Kim S Seo H, Byun HS, Park J, Chung MN, Kwak HR Kim MK, Kim CS, Yang JW, Lee KY, Choi HS and Lee S (2015) Seed transmission of *Sweet potato leaf curl virus* in sweet potato (*Ipomoea batatas*). Plant Pathology 64:1284-1291.
32. Kong LJ and Hanley-Bowdoin L (2002) A geminivirus replication protein interacts with a protein kinase and a motor protein that display different expression patterns during plant development and infection. Plant Cell 14:1817–1832.
33. Kong LJ, Orozco B, Roe JL, Nagar S, Ou S, Feiler HS, Durfee T, Miller AB, Gruissem W, Robertson D and Hanley-Bowdoin L (2000) A geminivirus replication protein interacts with the retinoblastoma protein through a novel domain to determine symptoms and tissue specificity of infection in plants. The EMBO Journal 19:3485-3495.
34. Lai J, Chen H, Teng K, Zhao Q, Zhang Z, Li Y, Liang L, Xia R, Wu Y, Gou H and Xie Q (2009) RKP, a RING finger E3 ligase induced by BSCTV C4 protein, affects geminivirus infection by regulation of the plant cell cycle. The Plant Journal 57:905-917.
35. Lefeuvre P, Martin DP, Harkins G, Lemey P, Gray AJ, Meredith S, Lakay F, Monjane A, Lett JM, Varsani A, Heydarnejad J (2010) The spread of tomato yellow leaf curl virus from the Middle East to the world. PLoS Pathogens 6:e1001164.
36. Legg JP and Fauquet CM (2004) Cassava mosaic geminiviruses in Africa. Plant Molecular Biology 56:585-599.
37. Lima AT, Sobrinho RR, Gonzalez-Aguilera J, Rocha CS, Silva SJ, Xavier CA, Silva FN, Duffy S, Zerbini FM (2012) Synonymous site variation due to recombination explains higher variability in begomovirus populations infecting non-cultivated hosts. Journal of General Virology 94:418–431.
38. Liu H, Lucy AP, Davies J and Boulton MI (2001) A single amino acid change in the coat protein of *Maize streak virus* abolishes systemic infection, but not interaction with viral DNA or movement protein. Molecular Plant Pathology 2:223-228.
39. Lozano-Duran R, Rosas-Díaz T, Gusmaroli G, Luna AP, Taconnat L, Deng XW, Bejarano ER (2011b) Geminiviruses subvert ubiquitination by altering CSN-mediated derubylation of SCF E3 ligase complexes and inhibit jasmonate signaling in *Arabidopsis thaliana.* Plant Cell 23:1014-1032.

40. Lozano-Duran R, Rosas-Diaz T, Luna AP and Bejarano ER (2011a) Identification of host genes involved in geminivirus infection using a reverse genetics approach. PLoS ONE 6:e22383.
41. Luque A, Sanz-Burgos AP, Ramirez-Parra E, Castellano MM and Gutierrez C (2002) Interaction of geminivirus Rep protein with replication factor C and its potential role during geminivirus DNA replication. Virology 302:83-94.
42. Mansoor S, Zafar Y and Briddon RW (2006) Geminivirus disease complexes: the threat is spreading. Trends of Plant Science 11: 209-212.
43. Marino D, Peeters N and Rivas S (2012) Ubiquitination during plant immune signaling. Plant Physiology 160:15-27.
44. Mehta D, Mehta D, Hirsch-Hoffmann M, Were M, Patrignani A, Zaidi SS, Were H, Gruissem W, Vanderschuren H (2018) A new full-length circular DNA sequencing method for viral-sized genomes reveals that RNAi transgenic plants provoke a shift in geminivirus populations in the field. Nucleic Acids Research 47:e9-e9.
45. Mubin M, Briddon RW and Mansoor S (2018) The V2 protein encoded by a monopartite begomovirus is a suppressor of both post-transcriptional and transcriptional gene silencing activity. Gene 686:43-48.
46. Nagar S, Pedersen TJ, Carrick KM, Hanley-Bowdoin L and Robertson D (1995) A geminivirus induces expression of a host DNA synthesis protein in terminally differentiated plant cells. Plant Cell 7:705-719.
47. Navas-Castillo J, Fiallo-Olive E and Sanchez-Campos S (2011) Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. Annual Review of Phytopathology 49:219-248.
48. Nawaz-ul-Rehman MS and Fauquet C (2009) Evolution of geminiviruses and their satellites. Federation of European Biochemical Societies 583:1825-1832.
49. Piroux M, Saunders K, Page A and Stanley J (2007) Geminivirus pathogenicity protein C4 interacts with Arabidopsis thaliana shaggy-related protein kinase AtSKη, a component of the brassinosteroid signaling pathway. Virology 362:428-440.
50. Pooggin MM (2018) Small RNA-omics for plant virus identification, virome reconstruction and antiviral defense characterization. Frontiers in Microbiology 9:2779.
51. Raja P, Wolf JN and Bisaro DM (2009) RNA silencing directed against geminiviruses: Post-transcriptional and epigenetic components. Biochimica et Biophysica Acta 1799:337-351.
52. Ramesh SV, Sahu P, Prasad M, Prasad M, Praveen S, Pappu HR (2017) Geminiviruses and Plant Hosts: A Closer Examination of the Molecular Arms Race. Viruses 9:256.
53. Rocha CS, Santos AA, Machado JP and Fontes EP (2008) The ribosomal protein L10/QM-like protein is a component of the NIK-mediated antiviral signaling. Virology 380:165-169.

54. Saeed M, Behjatnia SAA, Mansoor S, Zafar Y, Hasnain S and Rezaian MA (2005) A single complementary sense transcript of a geminiviral DNA β satellite is determinant of pathogenicity. Molecular Plant Microbe Intraction 18:7-14.
55. Saeed M, Briddon RW, Dalakouras A, Krczal G and Wassenegger M (2015) Functional analysis of Cotton leaf curl kokhran virus/Cotton leaf curl Multan betasatellite RNA silencing suppressors. Biology 4:697-714.
56. Santos AA, Carvalho CM, Florentino LH, Ramos HJ and Fontes EP (2009) Conserved threonine residues within the A‑loop of the receptor NIK differentially regulate the kinase function required for antiviral signaling. PLoS ONE 4:e5781.
57. Scholthof KB Scholthof KB, Adkins S, Czosnek H, Palukaitis P, Jacquot E, Hohn T, Hohn B, Saunders K, Candresse T, Ahlquist P, Hemenway C (2011) Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. Molecular Plant Pathology 12:938–954.
58. Settlage SB, See RGand Hanley-Bowdoin L (2005) Geminivirus C3 protein: replication enhancement and protein interactions. Journal of Virology 79:9885-9895.
59. Shen Q, Liu Z, Song F, Xie Q, Hanley-Bowdoin L and Zhou X (2011) Tomato SISnRK1 protein interacts with and phosphorylates βC1, a pathogenesis protein encoded by a geminivirus β-satellite. Plant Physiology 157:1349-1406.
60. Shen W and Hanley-Bowdoin L (2006) Geminivirus infection up‑regulates the expression of two *Arabidopsis* protein kinases related to yeast SNF1- and mammalian AMPK-activating kinases. Plant Physiology 142:1642-1655.
61. Shen W, Reyes MI and Hanley-Bowdoin L (2009) *Arabidopsis* protein kinases GRIK1 and GRIK2 specifically activate SnRK1 by phosphorylating its activation loop. Plant Physiology 150:996-1005.
62. Shepherd DNShepherd DN, Martin DP, Van der Walt E, Dent K, Varsani A, Rybicki EP (2010) Maize streak virus: an old and complex 'emerging' pathogen. Molecular Plant Pathology 11:1-12.
63. Shivaprasad PV, Akbergenov R, Trinks D, Rajeswaran R, Veluthambi K, Hohn T and Pooggin MM (2005) Promoters, transcripts, and regulatory proteins of mungbean yellow mosaic geminivirus. Journal of Virology 79:8149-8163.
64. Shrama P and Ikegami M (2008) RNA–silencing suppressors of geminiviruses. Journal of General Plant Pathology 74:189-202.
65. Soitamo AJ, Jada B and Lehto K (2012) Expression of geminiviral AC2 RNA silencing suppressor changes sugar and jasmonate responsive gene expression in transgenic tobacco plants. BMC Plant Biology 12:204.
66. Stenger DC, Revington GN, Stevenson M and Bisaro DM (1991) Replicational release of geminivirus genomes from tandemly repeated copies: evidence for rolling-circle replication of a plant viral DNA. Proceeding of National Academy of Science of the United States of America 88:8029-8033.
67. Tabein S and Behjatnia SAA (2014) Defective and satellite dnas of plant dna viruses. Plant Pathology Science 3:21-32. (In Persian with English Abstract).

68. Vanitharani R, Chellappan P, Pita JS and Fauquet CM (2004) Differential roles of AC2 and AC4 of cassava geminiviruses in mediating synergism and suppression of posttranscriptional gene silencing. Journal of Virology 78:9487-9498.
69. Varsani A, Roumagnac P, Fuchs M, Navas-Castillo J, Moriones E, Idris A, Briddon RW, River-Bustamante R, Zerbini FM and Martin DP (2017) *Capulavirus* and *Grablovirus*: two new genera in the family *Geminiviridae*. Archives of Virology 162:1819-1831.
70. Wang H, Buckley KJ, Ynag X, Buchmann RC and Bisaro DM (2005) Adenosine kinase inhibition and suppression of RNA silencing by geminivirus AL2 and L2 proteins. Journal of Virology 79:7410-7418.
71. Yang X, Xie Y, Raja P, Li S, Wolf JN, Shen Q, Bisaro DM, Zhou X. Suppression of methylation-mediated transcriptional gene silencing by βC1-SAHH protein interaction during geminivirus-betasatellite infection. PLoS Pathogens **7**:e1002329.
72. Zeng R, Liu X, Yang C and Lai J (2018) Geminivirus C4: Interplaying with Receptor-like Kinases. Trends in Plant Science 23:1044-1046.
73. Zhan B, Zhao W, Li S, Yang X and Zhou X (2018) Functional scanning of apple geminivirus proteins as symptom determinants and suppressors of posttranscriptional gene silencing. Viruses 10:488.
74. Zhang T, Luan JB, Qi JF, Huang CJ, Li M, Zhou XP and Liu SS (2012) Begomovirus-whitefly mutualism is achieved through repression of plant defenses by a virus pathogenicity factor. Molecular Ecology 21:1294-1304.