

IDENTIFICATION MOLECULAIRE D'UN BEGOMOVIRUS INFECTANT UN ECHANTILLON DE FEUILLE DE TOMATE DU SENEGAL

MOLECULAR IDENTIFICATION OF A BEGOMOVIRUS INFECTING A TOMATO LEAF SAMPLE OF SENEGAL

Camara M¹, Granier M², Mbaye AA³, Noba K⁴, Urbino C²
Peterschmitt M²

Résumé:

Des symptômes d'enroulement des feuilles sont communément observés dans les cultures de tomate au Sénégal. De tels symptômes ont été précédemment associés à des bégomovirus (famille *Geminiviridae*) par hybridation nucléotidique et par l'obtention de séquences génomiques partielles. Dans le cadre d'une évaluation d'une gamme de variétés de tomate pour leur résistance à la maladie de l'enroulement, un échantillon de feuilles de tomate présentant des symptômes typiques d'enroulement a été prélevé et analysé par PCR et séquençage. En utilisant des amorces précédemment conçues pour amplifier un fragment du gène de la protéine de capsid des bégomovirus, un produit de la taille attendue (580 paires de bases) a été obtenu à partir de l'ADN total extrait à partir de cet échantillon. La séquence obtenue du produit PCR présente 97% homologie avec des séquences partielles de bégomovirus précédemment isolés de tomate au Sénégal et avec la séquence du génome entier de *Tomato leaf curl Mali virus* (ToLCMLV). L'isolat de bégomovirus obtenu dans ce travail est provisoirement classé dans l'espèce ToLCMLV, mais son génome devra être entièrement séquencé pour le classer définitivement.

Mots-clés: tomate, bégomovirus, ToLCMLV, Sénégal

Abstract:

Leaf curl symptoms in tomato were often observed in Senegal. Such symptoms were previously associated with begomoviruses (family *Geminiviridae*) using hybridization or partial genomic sequences. Within a screening of a set of tomato cultivars for their resistance to leaf curl, a leaf sample exhibiting leaf curl was collected and dried at 35°C in an oven. Using primers previously designed to amplify a fragment of the capsid protein gene of begomoviruses, an expected 580 base pair product was obtained when the total DNA extracted from the leaf sample was used as template. This PCR product exhibit 97% nucleotide identity with partial sequences of begomoviruses previously isolated from tomato from Senegal and with Tomato leaf curl Mali virus (ToLCMLV), for which a complete genomic sequence was available. The begomovirus isolated here is provisionally classified as a member of the species ToLCMLV, but its genome will need to be completely sequenced for a definite classification.

keywords: tomato, begomoviruses, ToLCMLV, Senegal

¹ Département Productions Végétales, Institut Supérieur de Formation Agricole et Rurale (ISFAR), Université de Thiès, Sénégal

² ICIRAD – TA A5/K, Unité mixte de recherche Biologie & génétique des interactions plante-parasite

³ Laboratoire de Phytopathologie, Centre pour le Développement de l'Horticulture (CDH), ISRA, Sénégal, (BGPI), Campus international de Baillarguet 34398, Montpellier Cedex 5, France

⁴ Département de Biologie Végétale, Université Cheikh Anta DIOP de Dakar, Sénégal

I.Introduction:

La tomate est l'un des légumes les plus consommés dans le monde ; elle occupe la deuxième place derrière la pomme de terre. Au Sénégal, la tomate vient en seconde position après l'oignon. Les rendements moyens sont de l'ordre de 20T/ha, alors que des rendements de 100T/ha sont obtenus dans plusieurs pays (Laterrot, [1]).

Malgré son importance dans l'économie nationale, cette culture connaît de nombreux facteurs limitants dont les plus importants sont d'ordres physiologique et phytosanitaire. En effet, plus de deux cents maladies sont recensées à travers le monde. (Gry, [2]) Aux maladies cryptogamiques et/ou bactériennes s'ajoutent les ravageurs et les maladies virales. L'enroulement des feuilles causé par des bégomovirus (*Geminiviridae*) dont le *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* (TYLCV) est l'une des plus importantes et dangereuses maladies virales de la tomate (Belen et al [3] ; Moriones et al [4]). Ces virus sont transmis par une mouche blanche, *Bemisia tabaci* Gennadius, (Cohen et al [5] ; Czosnek et al [6]). La plante infectée devient naine et prend un aspect buissonnant, les folioles s'enroulent, jaunissent et leur taille est réduite (Cohen et al [7]). Les symptômes sont d'autant plus accentués que la variété est sensible et les conditions édapho-climatiques difficiles.

Les récoltes sont presque nulles lorsque la maladie se déclare avant la floraison et tout particulièrement quand l'infection a lieu en pépinière (Moriones et al [4]). Lorsque la transmission intervient après la floraison, les quelques fleurs formées donnent des fruits de calibre très réduit débouchant sur des pertes pouvant atteindre 75% (Anonyme, [8]). Ainsi, les dégâts causés par le TYLCV peuvent être de 50 à 70% si l'attaque est tardive et de 100% si elle se produit en pépinière (Belen et al [3] ; Vidavsky et al [9] ; Moriones et al [4] ; Ciss, [10]).

La lutte chimique contre le vecteur, longtemps préconisée, n'a pas apporté de solution satisfaisante et durable ; de plus, elle est onéreuse et polluante (Mason et al [11]). Il semble que l'amélioration génétique pour la résistance, avec la mise au point de variétés tolérantes ou résistantes, reste la meilleure approche (Pilowsky et al [12] ; Belen et al [3] ; Lapidot et al [13]). Cette approche, associée à une bonne connaissance de la dynamique de la mouche blanche en rapport avec l'épidémiologie de la maladie, permettrait de définir un contrôle intégré de cette virose (Moriones et al [4]).

Dans les années 1970 des enroulements de feuilles de tomate associés à des jaunissements ont été observés sur culture de tomate au Sénégal par des chercheurs du CIRAD (Jean Claude Girard, communication personnelle). Ces symptômes ont été décrits comme du *Tomato yellow leaf curl*, dans les années 1980 (D'hondt et al [14]) et une origine virale a été suggérée par comparaison aux symptômes provoqués par le *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) sur tomate en Israël (Cohen et al [15]). L'hypothèse virale a été confirmée sur des échantillons symptomatiques sénégalais à l'aide de sondes nucléotidiques complémentaires du TYLCV (Czosnek et al [6]). Une séquence partielle d'un virus isolé d'une tomate du Sénégal, publiée en 1996 (Genbank D88800) a révélé une organisation génétique similaire aux virus appartenant au genre *Begomovirus* (Famille *Geminiviridae*) tel que le TYLCV. Cette séquence ainsi que deux autres séquences partielles de génomes viraux isolés de deux plantes de tomate du Sénégal et publiées en 1998 (Genbank AF058028, AF058029) montrent 97-98% d'identité avec la région homologue du *Tomato leaf curl Mali virus* (ToLCMLV), un bégomovirus de tomate isolé récemment au Mali (Zhou et al [19]). Sur la base de cette comparaison, ces bégomovirus isolés de la tomate au Sénégal seraient des souches sénégalaises du

ToLCMLV. Des études récentes effectuées sur des échantillons de feuilles de tomate prélevées au Sénégal (Anonyme, [16]), ont confirmé que le virus prédominant détecté était le *Tomato Leaf Curl Mali Virus* (ToLCMLV) mais que le *Tomato Yellow Leaf Curl Mali Virus* (TYLCMLV) était également présent. Par contre le *Pepper Yellow Vein Mali Virus* (PYVMLV) n'a pas été trouvé. Certains échantillons positifs avec les amorces génériques pour la détection de begomovirus et négatifs avec les amorces spécifiques du TYLCV font penser que la participation d'autres virus dans la maladie du TYLC est possible. De plus, les begomovirus infectant la tomate n'ont pas été détectés dans les échantillons d'autres cultures ou herbes testées, ce qui suggère que ces virus ont une gamme d'hôtes étroite.

La sévérité des symptômes provoqués par ces virus mobilise des efforts dans la recherche de variétés résistantes de tomate, au niveau privé (Société Technisem) et public (Université de Dakar). Du fait que les variétés sont criblées pour la résistance sous infection naturelle, le criblage reste aléatoire. Non seulement on ne connaît pas la composition de l'inoculum naturel mais sa composition peut varier d'une année à l'autre. L'étude présentée ici est une tentative préliminaire de caractériser l'inoculum naturel dans la région de Dakar. Ainsi, un begomovirus apparemment proche du ToLCMLV a été identifié et partiellement caractérisé à partir d'un échantillon de feuilles de tomate présentant des symptômes caractéristiques d'une maladie à begomovirus.

II. Matériel et Méthodes

Un échantillon de feuille de tomate a été prélevé à Sangalkam, dans la région de Dakar et desséché à 35°C, pendant trois jours, à l'étuve pour analyse moléculaire. L'ADN total a été extrait à partir de 43 mg de ces feuilles desséchées sur des colonnes d'affinité Dneasy plant de la société

Qiagen. L'ADN total est élué avec 100µl d'eau.

Une amplification par PCR a été effectuée sur 1 µl d'extrait dilué au 1/10, 1/50 et 1/100, en utilisant les amorces TY1 et TY2. Ces amorces ont été décrites par Accotto *et al* [17] pour amplifier un fragment de 580 paires de bases (pb) du gène codant pour la protéine de capsid. Ces amorces sont dégénérées pour permettre l'amplification du génome de virus appartenant à plusieurs espèces de begomovirus et en particulier ceux qui sont présents en Europe.

L'amplification de ce fragment a été préparée dans un volume final de 25 µl contenant 1 µl d'extrait d'ADN, 2 mM de MgCl₂, 01 mM de dNTP, 02 µM d'amorces (TY1 et TY2) et 06 unité de polymérase « Hot start » (Promega, Charbonnières, France). Elle a été réalisée dans un thermocycleur de marque Eppendorf, selon le programme suivant : Une dénaturation initiale de 5 minutes à 95°C suivie de 35 cycles de 1 minute à 95°C, 1 minute à 57°C et 1 minute à 72°C. Une élongation finale à 72°C de 5 minutes termine la réaction.

La taille des produits d'amplification est déterminée par leur migration électrophorétique sur un gel d'agarose de 1,5%, préparé dans du tampon TAE.

Les produits d'amplification présentant la taille escomptée de 580 pb ont été découpés et extraits du gel pour les séparer des produits d'amplification « parasites » de tailles différentes. Cette purification permet d'améliorer l'efficacité du séquençage. Cette étape de purification et d'éluion à partir du gel a été réalisée à l'aide du kit « Wizard SV Gel and PCR Clean up system » de la société Promega, selon les recommandations du fabricant. Le fragment d'ADN ainsi purifié a été séquençé par la société Cogenics. Pour augmenter la fiabilité du séquençage, les deux brins du

fragment d'ADN ont été séquencés et ceci avec les deux amorces utilisées pour la PCR, TY1 et TY2.

La qualité des électrophorégrammes issus du séquençage a été vérifiée à l'aide du logiciel Chromas (Technelysium Pty Ltd). Les séquences ont été alignées à l'aide du logiciel DNAMAN (version 50, Lynnon BioSoft, Quebec, Canada). Les comparaisons avec les séquences disponibles dans la banque de séquences ont été faites avec le logiciel Blastn disponible dans GeneBank. L'arbre et la matrice des distances ont été obtenus avec des distances de Jukes et Cantor.

et TY2 ont pu être déterminées et nous avons eu 100% d'identité nucléotidique entre les 2 brins séquencés. Le fragment séquencé comporte 562 pb (Fig 2).

III.Résultats

L'amplification PCR à partir des extraits de feuilles de tomate récoltées au Sénégal a permis d'obtenir un produit d'amplification majeur de 580 pb (Fig 1).

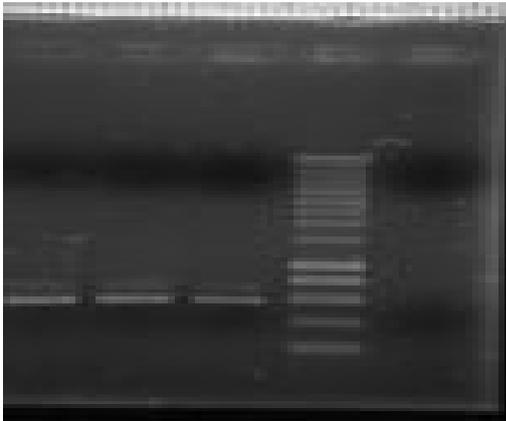


Fig 1 : Analyse de produits d'amplification PCR (amorces TY1 et TY2) sur un gel d'agarose de 1,5% préparé dans du tampon TAE Pistes 1-3 : produits PCR obtenus à partir d'extrait d'ADN total de feuilles de tomate symptomatique, dilué au 1/10, 1/50 et 1/100 respectivement La piste 5 : contrôle négatif dans lequel l'extrait d'ADN est remplacé par de l'eau La taille est déterminée à l'aide du marqueur de poids moléculaire déposé dans le puit 4; de bas en haut, 200pb, 400pb, 600pb, 800pb, 1000pb, 1500pb

D'après les électrophorégrammes analysés avec le logiciel Chromas, les deux séquences générées avec les amorces TY1

```

1      GCATGAGTAC ATGCCATATA CAATAACAAC GCATTCTCAG TATGATTCTC
   ATACTTAGCC

61     TCTTCCTGAT GGTTATACAC TACATGACTA TTAAGCCTAT AAAATCTTTT
   AACTAATGCC

121    TGTTCCCTTCA CTCCAGAGGG TCCACCCGTA ACGGTAGCAT GAAACTTTCT
   AAGTACTTGA

181    TATCTATCAC GGAGATCATT CTTACAGTG  GCGGTACTGG GCTCATTGTC
   AAACATATTG

241    AAAACCTGTC CAAAATCCAT TGGGCTTTTT CCATAGGGCC TTCTATCAG
   GACCAAATAG

301    AACATGACAT TGTTAGTATG ATTCGTCTTC TTAATGTTCT CGTCCATCCA
   AATCTTACCC

361    AATATATACA TGGACTTGAT GCAGAATCTC TTCCCGGTTT TATGAGTCAA
   ACCAGGACCA

421    CGAGTTATAT CACTAACACA ACGTACAATA CCGGTATGCT TCACATCATC
   CCTCTGCTCA

481    TACGACTGGA TCTTACATGG ACCTTCACAT CCACGTGGTA CATCAGGACT
   TCTGTACATT

541    TTGTAGAACT TGGGCTTCCG AT
    
```

Fig 2 : Séquence nucléotidique d'un fragment de 562 paires de bases dans le gène de la protéine de capsid d'un isolat de bégomovirus de tomate de Dakar

Ce fragment présente un pourcentage d'identité supérieur à 95% avec des séquences homologues de 4 virus de tomate pour lesquels des données de séquences sont disponibles dans la banque de séquences nucléotidiques GENBANK (Tableau 1). La comparaison avec ces quatre séquences présente un score très élevé et une très forte probabilité d'homologie (proche de 0) comme indiqué par le logiciel Blastn.

Les pourcentages significatifs d'identité obtenus avec d'autres séquences de la banque sont tous inférieurs ou égaux à 83% C'est notamment le cas du *Tomato leaf curl Arusha virus* isolé en Tanzanie qui présente un pourcentage d'identité de 83% dans la région homologue du gène de la protéine de capsid.

Tableau 1 : Comparaison de la séquence virale obtenue à partir d'un échantillon de feuille de tomate de la région de Dakar avec les séquences disponibles dans la base de données Genbank qui présentent les plus fortes identités de séquence

Virus	N° accession Genbank	Score (bits)	Identité avec l'isolat de Dakar	Probabilité
Tomato leaf curl Mali virus (ToLCMLV)	AY502936	952	97%	00
Tomato geminivirus Senegal isolat 2 du champ	<u>AF058029</u>	924	97%	00
Tomato geminivirus Senegal, isolat 1 du champ	AF058028	918	97%	00
Tomato leaf curl virus	D88800	904	95%	00

L'alignement des séquences obtenues pour les différents bégomovirus isolés au Sénégal montre que l'isolat de Dakar présente un pourcentage d'identité supérieur à 97% avec des isolats précédemment identifiés au Sénégal (AF058028, AF058029, (Brown et al [18]) et avec le ToLCMLV (Tableau 1). L'arbre construit avec la matrice de distance du tableau 2, montre que les bégomovirus isolés précédemment au Sénégal et le ToLCMLV forment un groupe distinct auquel l'isolat de Dakar semble ne pas appartenir (Fig 3).

été analysé par amplification PCR avec des amorces génériques de bégomovirus ciblant la protéine de capsid. Un amplifiat d'environ 600pb, une taille compatible avec la taille attendue pour un bégomovirus, a été obtenu. La séquence de ce fragment de 562 pb présente un pourcentage d'identité de 97% avec un bégomovirus de la tomate isolé au Mali, le *Tomato leaf curl Mali virus* (ToLCMLV, AY502936) et avec trois isolats de bégomovirus récoltés précédemment au Sénégal et dont les séquences sont disponibles dans Genbank (D88800, AF058028, AF058029) Le bégomovirus pour lequel une séquence

Tableau 2: Comparaison de séquences nucléotidiques du Bégomovirus du Dakar avec d'autres bégomovirus isolés précédemment sur tomate au Sénégal La comparaison est faite dans une région de 536 nucléotides du gène de la protéine de capsid L'isolat obtenu dans le cadre de cette étude est désigné « Bégomovirus Dakar »

Bégomovirus Dakar	100%
Sénégal tomate D88800	961% 100%
Sénégal tomate AF058028	976% 981% 100%
Sénégal tomate AF058029	978% 983% 998% 100%
ToLCMLV AY502936	974% 968% 983% 985% 100%
TYLCMLV AY502934	819% 811% 817% 819% 815% 100%

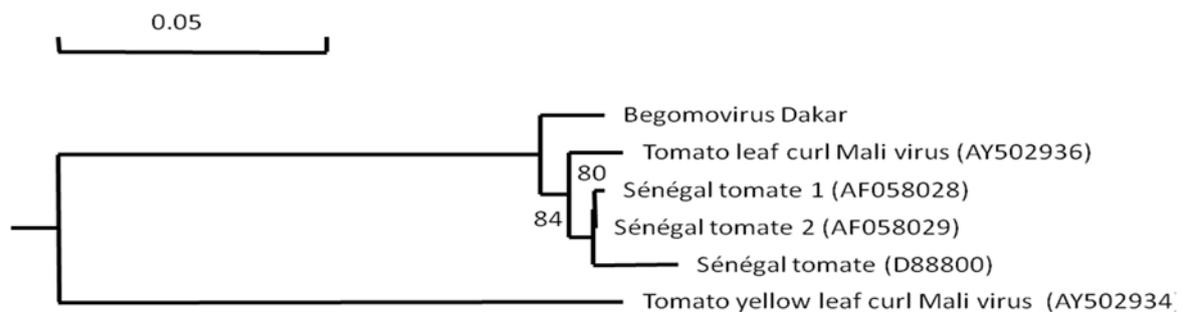


Fig 3 : Arbre de type Neighbour Joining montrant les distances génétiques (Jukes et Cantor) détectées entre différents bégomovirus dans une région de 536 nucléotides du gène codant pour la protéine de capsid L'isolat analysé ici est désigné « Bégomovirus Dakar » Le Tomato yellow leaf curl Mali virus a été utilisé comme un virus parent éloigné pour enracer l'arbre de distance Les chiffres sur l'arbre indiquent les groupes qui ont été obtenus dans au moins 800 arbres sur 1000 obtenus par un tirage aléatoire des positions nucléotidiques de la région génomique comparée

IV. Discussion et conclusion

Des variétés de tomate sont comparées pour leur comportement vis-à-vis d'attaque virale en condition d'inoculation naturelle dans la région de Dakar. Des virus du genre bégomovirus sont soupçonnés de provoquer les symptômes observés. Pour confirmer cette hypothèse, un échantillon de tomate a

partielle du gène de la protéine de capsid a été obtenue est vraisemblablement une souche du *Tomato leaf curl Mali virus*. De plus, d'après l'arbre de distances de la Fig 3, l'isolat de Dakar semble diverger des autres isolats de cette espèce. Cependant, du fait que la recombinaison est un phénomène fréquent chez les bégomovirus, la position

de cette nouvelle souche devra être confirmée sur la base de la séquence génomique complète d'un clone viral.

De nombreuses autres espèces de bégomovirus provoquent des symptômes d'enroulement des feuilles avec plus ou moins de jaunissement (Fauquet et al, [20]) D'après Ueda et al [21], cinq souches de TYLCV sont maintenant reconnues par le Comité International sur la Taxonomie des Virus (ICTV): Tomato yellow leaf curl virus - Gezira (TYLCV-Gez), Tomato yellow leaf curl virus - Israel (TYLCV-IL), Tomato yellow leaf curl virus - Mild (TYLCV-Mld), Tomato yellow leaf curl virus - Oman (TYLCV-OM) et Tomato yellow leaf curl virus - Iran (TYLCV-IR). Cette pluralité de souches de TYLCV et d'espèces de bégomovirus (et même de recombinaison fréquente chez les virus) pose le problème de la stabilité de la résistance des variétés. L'apparition de nouvelles souches virales, à cause des recombinaisons fréquentes fait qu'une variété de tomate est résistante ou tolérante dans une localité et sensible dans une autre (Reddy et al [22]). La distribution de variétés est également rendue difficile du fait que le TYLCV est un complexe d'espèces ou de races de virus (Rojas et al [23]).

Références bibliographiques :

- [1] **Laterrot H** Création de populations sources pour la sélection de variétés de tomates résistantes à la virose de l'enroulement foliaire dans les pays Méditerranéens subtropicaux et tropicaux INRA-Station d'amélioration des plantes maraîchères, BP 94-84143 MontFavet-France 1994, 25 p et annexes
- [2] **Gry L** La tomate en révolution permanente Semences et progrès 78 (1994), 21 -34
- [3] **Belen P, Diez M J, Nuez F** Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop II The Tomato yellow leaf curl virus- a review *Scientia Horticulturae* 67(1996) 151-196
- [4] **Moriones E and Navas-Castillo J** Tomato yellow leaf curl virus, an emerging virus complex causing epidemics worldwide *Virus Research* 71 (2000) 123-134
- [5] **Cohen S, Harpaz I** Periodic, rather than continual acquisition of a new tomato virus by its vector, the tobacco whitefly (*Bemisia tabaci* Gennadius) *Entomol Exp Appl* 7, 1964, 155-166
- [6] **Czosnek H and Laterrot H** A worldwide survey of tomato yellow leaf curl viruses *Arch Virol* (1997) 142: 1391-1406
- [7] **Cohen S, Melamed M V and Hameiri J** Prevention of the spread of tomato yellow leaf curl virus transmitted by *Bemisia tabaci* in Israel *Bulletin of Entomological Research* 1974 ,64, 193-7
- [8] **Anonyme** Les problèmes du maraîchage au Sénégal Direction de la Protection des Végétaux (DPV), 1998, 4 pages
- [9] **Vidavsky F and Czosnek H** Tomato Breeding Lines Resistant and Tolerant to Tomato Yellow Leaf Curl Virus Issued from *Lycopersicon hirsutum* *Phytopathology* 1998, Vol 88, No 9, 910-914
- [10] **Ciss I** Epidémiologie comparée du TYLCV chez les variétés sensibles et tolérantes de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) Mémoire de fin d'études pour le Diplôme d'Ingénieur des Travaux Agricoles, ENCR de

- Bambey, Sénégal 2004, 43 pages + annexes
- [11] **Mason G, Rancati M and Bosco D** The effect of thiamethoxam, a second generation neonicotinoid insecticide, in preventing transmission of tomato yellow leaf curl geminivirus (TYLCV) by the whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) *Crop Protection* 2000, 19 473-479
- [12] **Pilowsky M and Cohen S** Tolerance to Tomato Yellow Leaf Curl Virus Derived from *Lycopersicon peruvianum* *Plant Disease* 1990, Vol 74 No 3: 248-250
- [13] **Lapidot M, Friedmann M, Iachman O, Yehezkel A, Nahon S, Cohen S, Pilowsky M** Comparison of Resistance Level to Tomato Yellow Leaf Curl Virus Among Commercial Cultivars and Breeding Lines *Plant Disease* 1997, Vol 81 No 12 : 1425-1428
- [14] **D'hondt, MD, and Russo M** Tomato yellow leaf curl in Sénégal *Phytopathologische Zeitschrift* 112 1985, (2): 153-160
- [15] **Cohen S, and Nitzany E** Transmission of host range of the tomato yellow curl virus *Phytopathology* 1966, 56: 1127-1131
- [16] **Anonyme** Agricultural Biotechnology Support Project (ABSP) II – Application of Biotechnology to the Tomato Virus Crisis in West Africa *Quarterly Progress Report* April – June 2006 Cornell University (USA)
- [17] **Accotto GP, NavasCastillo J, Noris E, Moriones E and Louro D** Typing of Tomato Yellow Leaf Curl viruses in Europe *European Journal of Plant Pathology* 2000, 106 (2):179-186
- [18] **Brown GK, Idris I, TorresJerez GK, Banks, and Wyatt SD** The core region of the coat protein gene is highly useful for establishing the provisional identification and classification of begomoviruses *Archives of Virology* 2001, 146 (8):1581-1598
- [19] **Zhou,YC, Noussourou,M, Kon,T, Rojas,MR, Jiang,H, Chen,LF, Gamby, K, Foster, R and Gilbertson,RL** Evidence of local evolution of tomato-infecting begomovirus species in West Africa: characterization of tomato leaf curl Mali virus and tomato yellow leaf crumple virus from Mali *JOURNAL Arch Virol* 2008, 153 (4), 693-706
- [20] **Fauquet, CM, Briddon, RW, Brown, JK, Moriones, E, Zerbini, M, Zjou, X** Geminivirus strain demarcation and nomenclature *Arch Virol*, 2008, **153**(4): 783-821
- [21] **Ueda, S, Onuki, M, Kijima, K, Futagani, K, Kinjo, K, Murayama, Y, Taniguchi, M, Kawano, S** Introduction and molecular characterization of Tomato yellow leaf curl virus in Okinawa, Japan, *Jpn Agr Res Q* 2009, 43(1): 19-24, <http://www.jicasaffrcgojp>
- [22] **Reddy Chowda, RV, Colvin, J, Muniyappa, V, and Seal, S E** Diversity and distribution of begomoviruses infecting tomato in India *Arch Virol* (2005) DOI 10.1007/s00705-004-0486-5
- [23] **Rojas, M R, Hagen, C, Lucas, W J, Gilbertson, R L** Exploiting chinks in the plant's armor: evolution and emergence of geminiviruses *Annu RevPhytopathol* 2005 43: 361-94