

Búsqueda de hospederos alternativos del virus del mosaico amarillo de la papa, un begomovirus que afecta cultivos de tomate en el Valle del Cauca

Karina López-López¹, Doryan Otavo-Fiscal¹ y Juan C. Vaca-Vaca^{1*}

¹Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, AA. 237, Palmira, Valle del Cauca, Colombia. *Autor para correspondencia: jvacava@unal.edu.co

Palabras clave: Virus del mosaico amarillo de la papa, virus del tomate, hospederos.

Las arvenses actúan como hospederos alternativos de virus, por lo que son un factor clave en la epidemiología al servir de fuente de inóculo primario para su transmisión vía vector biológico a las plantas cultivadas. Los begomovirus, virus transmitidos por mosca blanca (*Bemisia tabaci*), se han convertido en una seria limitante para la producción del tomate en Colombia. En un muestreo hecho en el Valle del Cauca se encontró que este cultivo era afectado por una única variante begomoviral, el virus del mosaico amarillo de la papa (PYMV) (Vaca-Vaca et al., 2012a). Adicionalmente, se analizaron los arvenses asociados con el cultivo de tomate en Palmira, Valle del Cauca, y se encontró que *Desmodium* sp., *Amaranthus dibiis*, *Laportea aestuans*, *Rivina humilis* y *Lantana camara* eran hospederos de *Begomovirus* (Vaca-Vaca et al., 2012b). Con base en estos hechos se planteó la presente investigación, cuyo objetivo fue buscar el arvense que pudieran actuar como hospedero alternativo del *Begomovirus* PYMV.

Los muestreos se hicieron durante el 2011, en cultivos de tomate del municipio de Palmira, en el Valle del Cauca. Se recolectaron hojas jóvenes de arvenses con sintomatología virales típicos como: mosaicos, epinastias, clorosis foliar y abultamientos foliares. Para la extracción del DNA se utilizó el protocolo descrito por Dellaporta et al. (1983). Para la reacción en cadena de la polimerasa se utilizaron los iniciadores degenerados reportados por Rojas et al. (1993) que amplifican un fragmento de 1200 pb del DNA-A geminiviral PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction –Restriction Fragment Length Polymorphism): Los fragmentos de 1200pb del componente genómico DNA-A previamente amplificados por PCR fueron digeridos con tres enzimas de restricción: *Pst*I, *Ssp*I y *Hinc*II (Fermentas®). Estas enzimas fueron seleccionadas de acuerdo con un análisis bioinformático hecho con el programa DNASTAR® a la secuencia obtenida de una muestra recolectada en el municipio de Tuluá (Valle del Cauca) e identificada como *Potato yellow mosaic virus* (Colombia) (Betancur-Pérez, 2012). Las reacciones enzimáticas se llevaron a cabo según los métodos descritos por el fabricante y los productos obtenidos fueron separados y visualizados en geles de agarosa al 2%, teñidos con bromuro de etidio.

Resultados

Se aplicó la técnica PCR-RFLP a fragmentos de DNA-A geminiviral amplificados de los arvenses *Momordica charantia* (Mc), *Rivina humilis* (Rh), *Laportea estuans* (Le) y *Amaranthus dubius* (Ad) y se compararon con los fragmentos obtenidos in silico para PYMV (Cuadro 1). En el Cuadro se observa que cuando se cortó el fragmento viral con la enzima *Pst*I se obtuvieron tres fragmentos de 1.200 pb, 1.000 pb y 200 pb en los arvenses Mc, Ad y Le, mientras que Rh no presentó sitio de corte con esta enzima. Al comparar los fragmentos en tamaño y número con lo encontrado para PYMV se observa que son diferentes. Este mismo resultado se obtiene cuando se utiliza la enzima *Hinc*II donde se observa que para virus amplificados de los arvenses Mc, Ad y Rh. se liberan tres fragmentos de 1.200 pb, 1.100 pb y 200 pb. Únicamente con la enzima *Ssp*I se obtienen fragmentos en número y tamaño similar entre los virus amplificados de los arvenses Mc, Ad, Le y Rh con los reportados para PYMV. Esto debido a que el sitio *Ssp*I está localizado en la horquilla de replicación de todos los *Geminivirus*, lo que indicaría que los virus amplificados pertenecen a esta familia (Gutiérrez, 2002).

Cuadro 1. Análisis de restricción enzimática de un fragmento de DNA-A geminiviral obtenido de arvenses colectadas en Palmira, Valle del Cauca.

<i>Begomovirus</i>	Enzimas de restricción		
	<i>Hinc II</i> ^a	<i>Ssp I</i> ^a	<i>Pst I</i> ^a
PYMV ^b	4 (680, 389, 100, 100)	2 (911, 389)	2 (670, 630)
<i>Momordica cahrantia</i>	3 (1200, 1100, 200)	3 (1200, 800, 400)	3 (1200, 1000, 200)
<i>Amaranthus dubius</i>	3 (1200, 1100, 200)	3 (1200, 800, 400)	3 (1200, 1000, 200)
<i>Laportea estuans</i>	2 (1200, 1100)	2 (1200, 800)	3 (1200, 1000, 200)
<i>Rivina humilis</i>	3 (1200, 1100, 200)		1 (1200)

^a Los números indican la cantidad de fragmentos obtenidos con la enzima de restricción. Entre paréntesis se muestra el tamaño aproximado de los fragmentos obtenidos con la enzima de restricción en pares de bases. ^b Resultado obtenido del análisis in silico de PYMV empleando el programa DNASTAR®.

Conclusión

Los patrones de bandas obtenidos de los *Begomovirus* bipartitas presentes en *Momordica charantia*, *Amaranthus dubius*, *Laportea estuans* y *Rivina humilis* no coinciden con el patrón obtenido para el *Begomovirus* PYMV, lo que indica que estos arvenses no son hospederos alternativos de este virus, sino de otros *Begomovirus* con potencial de afectar cultivos de interés agronómico.

Agradecimientos

El presente proyecto de investigación fue financiado con recursos de la Dirección de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira a través del grupo de Investigación IPMA Interacción Planta Microorganismo Ambiente.

Referencias

- Betancur-Perez, F. 2012. Identificación y caracterización molecular de virus transmitidos por mosca blanca *Bemisia tabaci* que infectan tomate en la región andina de Colombia. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias Agropecuarias, Sede Palmira. p. 113.
- Dellaporta, L.; Wood, J. and Hicks, J. B. 1983. A plant DNA miniprep: version II. *Plant Mol. Biol. Rep.* 1, 19-21.
- Gutiérrez, C. 2002. Strategies for geminivirus DNA replication and cell cycle interference. *Physiol. Mol. Plant. Pathol.* 61:219-230.
- Rojas M.R.; Gilbertson R.L.; Ruseel D.R., y Maxwell D.P. 1993. Use of generate oligonucleotides in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminivirus. *Plant dis.* 77:340-347.
- Vaca-Vaca, J. C.; Betancur-Pérez, J. F. y López-López, K. 2012a. Distribución y diversidad genética de *Begomovirus* que infectan tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en Colombia. *Rev. Colomb. Biotecnol* 14: 60-76.
- Vaca-Vaca, J.C.; Otavo-Fiscal D. y López-López, K. 2012b. Identificación de arvenses como hospedantes naturales de *Begomovirus* en dos municipios del Valle del Cauca, Colombia. Manuscrito sometido a revista Fitopatología Colombiana.