

Identificación de *Begomovirus bipartitas* en cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum*) en Caldas y Risaralda

Karina López-López¹, Paula T. Uribe-Echeverry^{1,2}, y Juan Carlos Vaca-Vaca^{1*}

¹Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, AA. 237, Palmira, Valle del Cauca, Colombia. ²Universidad de Manizales, Manizales, Caldas, Colombia. *Autor para correspondencia: jcvacava@unal.edu.co

Palabras clave: *Geminivirus*, virus del mosaico amarillo de la papa, *bemisia tabaci*, tomate, *lycopersicum*.

Las enfermedades causadas por *Begomovirus bipartitas*, virus transmitidos por la mosca blanca *Bemisia tabaci*, se han convertido en un serio limitante para la producción del tomate en Colombia. Se ha detectado la presencia de estos virus en cultivos de tomate en Antioquia, Santander, Boyacá, Cundinamarca y Valle del Cauca (Vaca-Vaca et al., 2011). El objetivo de esta investigación fue determinar si las virosis observadas en cultivos de tomate localizadas en Caldas y Risaralda son causadas por *Begomovirus bipartitas*.

Metodología

Recolección del material vegetal y extracción de DNA total. Se recolectaron hojas de tomate con síntomas de la enfermedad begomoviral en cinco localidades de Caldas y Risaralda, a las cuales, con el DNeasy Plant mini Kit (Qiagen, Germany) se les extrajo el DNA genómico total.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se utilizaron los primers y las condiciones de PCR previamente reportadas por Rojas et al. (1993).

Hibridación de ácidos nucleicos tipo dot blot. La hibridación se hizo sobre una membrana de nilon de acuerdo con las instrucciones reportadas por el fabricante del kit Gene Images AlkPhos Direct Labelling and Detection System Kit (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ). Se utilizó como sonda un fragmento de DNA obtenido de una muestra recolectada en el municipio de Tuluá (Valle del Cauca) y previamente identificado como *Potato yellow mosaic virus* [Colombia] (PYMV-Col) (Betancur-Pérez, 2012).

Resultados

Con PCR se amplificó un fragmento de 1100 pb correspondiente al componente genómico geminiviral A (DNA-A) en dos muestras recolectadas en Caldas (Chinchiná y Palestina) y una muestra de Risaralda (Cerritos) (Foto 1A). El componente genómico geminiviral B (DNA-B) únicamente se detectó en una muestra de Risaralda (Cerritos) en la que se observó la amplificación de un fragmento de 600pb (Foto 1B). La presencia de al menos uno de estos fragmentos denota la existencia de un *Begomovirus bipartitas* en la muestra. Con el fin de establecer la identidad molecular del *Begomovirus bipartita* amplificado por PCR se empleó la técnica *dot blot*, y se usó como sonda un fragmento del *Begomovirus PYMV-Col*.

Al analizar la intensidad de la señal en la membrana (Foto 2) se observó que todas las muestras recolectadas fueron positivas para *Begomovirus*, donde la muestra recolectada en Cerritos, Risaralda, presentó la mayor intensidad. Los resultados obtenidos indican que las muestras recolectadas en campo se encuentran infectadas con un *Begomovirus* filogenéticamente relacionado con el virus PYMV-Col.

Conclusión

Este es el primer reporte de la presencia de *Begomovirus bipartitas* en cultivos de tomate localizados en los municipios Chinchiná y Palestina, Caldas, y en los municipios Cerritos y Santa Rosa de Cabal, Risaralda. El *Begomovirus bipartitas* detectado está relacionado con el virus PYMV-Col, un geminivirus previamente identificado en Tuluá, Valle del Cauca (Betancur-Pérez, 2012).

Agradecimientos

El presente proyecto de investigación fue financiado con recursos del ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia (MADR), la empresa Defrescura S.A. y la Universidad Nacional de Colombia. Los autores expresan su más sincero agradecimiento a la Compañía Agroindustrial de Semillas S.A., por su invaluable ayuda para la organización y recolección del material vegetal.

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.
- Morales, F. J.; Martínez, A.K. y A. C. Velasco. 2002. Nuevos brotes de geminivirus en Colombia. Fitopatol. Colombiana. 26:76-78.
- Rojas M. R.; Gilbertson R. L.; Ruseel D. R. and D.P. Maxwell. 1993. Use of generate oligonucleotides in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminivirus. Plant dis. 77:340 - 347.
- Vaca-Vaca, J. V.; Betancurt-Pérez J. F. y López-López. K. 2011. Detección, identificación y localización geográfica de Begomovirus que afectan al tomate en Colombia. Rev. Colomb. Biotecnol. 8:115 - 122.
- Vaca-Vaca, J. V.; Betancur-Pérez, J. F. y López-López. K. 2012. Distribución y diversidad genética de *Begomovirus* que infec- tan tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en Colombia. Rev. Colomb. Biotecnol. 14:60 - 76.

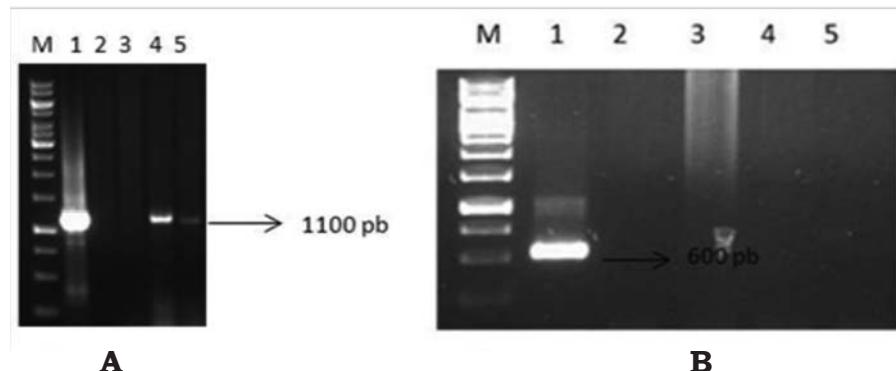


Foto 1. Detección de *Begomovirus bipartitas* por PCR. A. Amplificación del componente geminiviral A; B. Amplificación del componente geminiviral B. M, Marcador de peso molecular 1Kb de Fermentas. 1, Cerritos- Risaralda; 2; Santa Rosa de Cabal-Risaralda; 3- Chinchiná-Caldas; 4, 5, Palestina-Caldas.

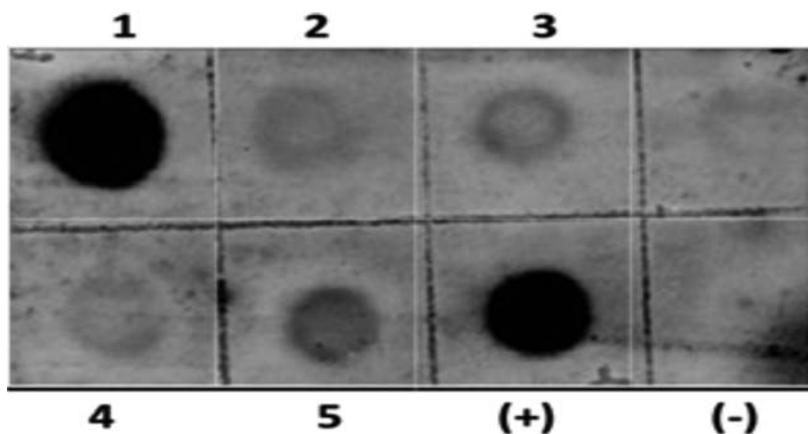


Foto 2. Hibridación de ácidos nucleicos tipo 'dot-blot' en muestras colectadas en Risaralda y Caldas utilizando como sonda a PYMV-Col. 1, Cerritos- Risaralda; 2; Santa Rosa de Cabal-Risaralda; 3- Chinchiná-Caldas; 4, 5, Palestina-Caldas. (+), Control positivo (DNA de una planta de tomate inoculada con PYMV-Col). (-), Control Negativo.