



Colección Nuevo conocimiento agropecuario

Principios de virología molecular de plantas tropicales

Mauricio Marín Montoya
Pablo Andrés Gutiérrez Sánchez

Corpoica
EDITORIAL
www.corpoica.org.co

*Dedico este libro a mi hija Carolina, a mi esposa
Paola y a mis padres Gloria y Ernesto*
Mauricio Marín M.

A mi familia
Pablo A. Gutiérrez Sánchez

Colección Nuevo conocimiento agropecuario

Principios de virología molecular de plantas tropicales

Mauricio Marín Montoya
Pablo Andrés Gutiérrez Sánchez

Corpoica
EDITORIAL
www.corpoica.org.co

Mosquera, Colombia 2016

Marín Montoya, Mauricio

Principios de virología molecular de plantas tropicales. / Mauricio Marín Montoya y Pablo Andrés Gutiérrez Sánchez. - Mosquera (Colombia): Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), 2016.

308 páginas: ilustraciones, datos numéricos

Incluye referencias bibliográficas

ISBN obra impresa: 978-958-740-229-2 ISBN (e): 978-958-740-230-8

1. Virus de las plantas 2. Control de enfermedades de plantas 3. Infección 4. Resistencia genética I. Gutiérrez Sánchez, Pablo Andrés.

Palabras clave normalizadas según Tesauro Multilingüe de Agricultura Agrovoc

Catalogación en la publicación - Biblioteca Agropecuaria de Colombia

Corporación Colombiana de Investigación
Agropecuaria Corpoica

Primera edición: 500
Impreso en Bogotá, Colombia
Printed in Bogota, Colombia

Preparación editorial
Editorial Corpoica
editorial.corpoica@corpoica.org.co
Editora: Liliana Gaona García
Corrección de estilo: Olga Lucía Riaño
Diseño y diagramación: Studio Swamp s.a.s.
Impresión: Javegraf
Impreso en Bogotá, D. C., Colombia, diciembre 2016

Citación sugerida: Marín-Montoya M, Gutiérrez-Sánchez PA. 2016. Principios de virología molecular de plantas tropicales. Mosquera, Colombia: [Corpoica] Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria.

Cláusula de responsabilidad: Corpoica no es responsable de las opiniones e información recogidas en el presente texto. Los autores asumen de manera exclusiva y plena toda responsabilidad sobre su contenido, ya sea este propio o de terceros, declarando en este último supuesto que cuentan con la debida autorización de terceros para su publicación; igualmente, declaran que no existe conflicto de interés alguno en relación con los resultados de la investigación propiedad de tales terceros. En consecuencia, los autores serán responsables civil, administrativa o penalmente, frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros relativa a los derechos de autor u otros derechos que se hubieran vulnerado como resultado de su contribución.



https://co.creativecommons.org/?page_id=13

Línea de atención al cliente: 018000121515
atencionalcliente@corpoica.org.co
www.corpoica.org.co

Tabla de Contenido

Presentación.....	31
Introducción	35

Primera parte Generalidades de los virus

Capítulo I	
La noción de virus	41
¿Son los virus seres vivos?.....	41
Definición de virus	43
Capítulo II	
Historia de la virología.....	47
Capítulo III	
Nomenclatura y taxonomía de virus	57
Capítulo IV	
Estructura y genoma de los virus.....	69
Arquitectura isométrica (icosaédrica)	71
Arquitectura helicoidal.....	73
Arquitectura bacilar.....	74
Arquitectura compleja	74
Arquitectura pleomórfica.....	75
Genomas virales	75
Capítulo V	
Importancia económica de los virus de plantas	83
Caracterización de virus con incidencia económica mundial.....	85

Segunda parte Ciclo infectivo, relaciones con hospedantes y vectores

Capítulo VI	
Síntomas causados por virus en plantas	97
Síntomas locales	98
Síntomas sistémicos.....	99
Cambio en la coloración de los tejidos.....	101
Marchitamientos	102

Necrosis	103
Anillos concéntricos y grabados.....	103
Malformación de tejidos y órganos.....	104
Cambios en las características organolépticas	104
Reducción en el crecimiento y el rendimiento de las plantas.....	105
Recuperación de síntomas.....	105
Síntomas microscópicos	105
Rango de hospedantes	106

Capítulo VII

Transmisión de virus	109
Transmisión horizontal.....	110
Transmisión vertical	115

Capítulo VIII

Ciclos de infección de los virus de plantas.....	123
Ingreso del virión y desensamblaje	124
Síntesis de mRNA	124
Traducción de proteínas virales	124
Genomas multipartitas.....	130
Replicación de virus	133
Ensamblaje de partículas virales	138
Movimiento interno de virus en las plantas	139
Movimiento intercelular.....	140
Movimiento sistémico de virus.....	141

{ 6 }

Capítulo IX

Defensa de las plantas ante la infección viral.....	143
Defensa contra virus por silenciamiento de RNA.....	146
Supresores virales del silenciamiento de RNA	147
Plantas transgénicas por resistencia a virus	149

Capítulo X

Manejo de las enfermedades virales.....	155
Prácticas de manejo de enfermedades virales	157
Prácticas de exclusión	158
Prácticas culturales	160
Resistencia genética	166
Prácticas de manejo de vectores y otros sistemas de transmisión viral.....	166
Prácticas regulatorias	167

Tercera parte
Características de algunos de los principales grupos taxonómicos de virus

Capítulo XI

Virus de ssDNA169

 Familia *Geminiviridae*.....169

Capítulo XII

Virus de dsDNA (RT)175

 Género *Badnavirus*.....178

 Género *Tungrovirus*..... 180

Capítulo XIII

Virus de -ssRNA- y +/-ssRNA183

 Familia *Bunyaviridae*.....183

 Género *Tospovirus*.....185

 Género *Tenuivirus* 186

 Familia *Rhabdoviridae*189

Capítulo XIV

Virus de dsRNA.....195

 Familia *Reoviridae*195

Capítulo XV

Virus de +ssRNA 203

 Familia *Virgaviridae*..... 203

 Familia *Potyviridae* 207

 Familia *Alphaflexiviridae*211

 Familia *Betaflexiviridae*.....213

 Familia *Luteoviridae*.....216

 Familia *Closteroviridae*.....219

{ 7 }

Cuarta parte
Descripción y manejo de enfermedades virales

Capítulo XVI

Virus del cultivo de maíz (*Zea mays*) 225

 Maize streak virus (MSV) 228

 Mal de Río Cuarto virus (MRCV)..... 229

 Maize rayado fino virus (MRFV) 230

 Maize mosaic virus (MMV) y Maize stripe virus (MSPV)231

Capítulo XVII

Virus del cultivo de cacao (<i>Theobroma cacao</i>)	235
<i>Cacao swollen shoot virus</i> (CSSV).....	235

Capítulo XVIII

Virus del cultivo de caña de azúcar (<i>Saccharum officinarum</i>).....	239
<i>Sugarcane mosaic virus</i> (SCMV).....	240
<i>Sugarcane yellow leaf virus</i> (SCYLV)	242
<i>Fiji disease virus</i> (FDV).....	243

Capítulo XIX

Virus del cultivo de arroz (<i>Oryza sativa</i>)	247
<i>Rice tungro bacilliform virus</i> (RTBV) y <i>Rice tungro spherical virus</i> (RTSV).....	248
<i>Rice hoja blanca virus</i> (RHBV).....	250
<i>Rice yellow mottle virus</i> (RYMV).....	252

Capítulo XX

Virus del cultivo de frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	255
<i>Bean common mosaic virus</i> (BCMV).....	257
<i>Bean golden mosaic virus</i> (BGMV)	258

Capítulo XXI

{ 8 } Virus del cultivo de papa (<i>Solanum tuberosum</i> y <i>S. phureja</i>).....	261
<i>Potato mop-top virus</i> (PMTV)	262
<i>Potato virus Y</i> (PVY).....	263
<i>Potato virus X</i> (PVX).....	265
<i>Potato virus S</i> (PVS).....	265
<i>Potato leafroll virus</i> (PLRV).....	266
<i>Potato yellow vein virus</i> (PYVV)	267
Manejo de enfermedades virales en papa.....	268

Capítulo XXII

Virus del cultivo de yuca (<i>Manihot esculenta</i>)	271
<i>Cassava mosaic disease</i> (CMD).....	272
<i>Cassava brown streak disease</i> (CBSD).....	274

Capítulo XXIII

Virus del cultivo de musáceas (<i>Musa</i> spp.).....	277
<i>Banana bunchy top virus</i> (BBTV)	277
<i>Banana streak disease</i> (BSD)	279

Capítulo XXIV

Virus del cultivo de papaya (<i>Carica papaya</i>).....	283
<i>Papaya ringspot virus</i> (PRSV).....	284

Capítulo XXV

Virus del cultivo de cítricos (*Citrus* spp.).....287

Citrus tristeza virus (CTV).....287

Citrus psorosis virus (CPsV).....289

 Leprosis de los cítricos (cILV-C y cILV-N).....290

Los autores295

Bibliografía.....297

Apéndices307

 Apéndice 1. Estructura de anticuerpos y sitios de unión de antígenos
 y diferentes formatos de pruebas de ELISA 307

 Apéndice 2. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) 308

 Apéndice 3. RT-PCR 309

 Apéndice 4. Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR) 310



Lista de figuras

Figura 1	Dos aspectos fundamentales que explican las altas tasas de dispersión de virus en las regiones tropicales y subtropicales. a. La propagación asexual (como ejemplo: tubérculo con brotes de papa) de diferentes cultivos con esquemas deficientes de certificación de semilla; b. Las altas poblaciones de insectos vectores (como ejemplo: hoja de tamarillo con alta infestación de áfidos)	36	
Figura 2	a. Deterioro de plantas de cítricos; b. Muerte de plantas de cacao, afectadas por <i>Citrus tristeza virus</i> (CTV) y <i>Cacao swollen shoot virus</i> (CSSV), respectivamente	37	
Figura 3	Ubicación de la regiones tropicales y subtropicales en el mundo. Algunas regiones que geográficamente se sitúan en la zona subtropical se consideran templadas debido a sus condiciones climáticas particulares	38	
Figura 4	Distribución altitudinal de zonas geográficas en la región tropical	39	
Figura 5	Diferentes sistemas de cultivo en las regiones tropicales y subtropicales. a. Rotación de cultivos papa-pastos; b. Monocultivo de tamarillo o tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>) en el trópico alto de Suramérica; c. Monocultivo de trigo en la región subtropical de Argentina; d. Cultivo mixto de banano y batata (camote) en el trópico bajo de la República Democrática del Congo	39	
Figura 6	Microscopía electrónica de células infectadas con potyvirus. a. Inclusiones citoplasmáticas tipo ruedas de carreta (<i>pinwheels</i>); b. Partículas filamentosas flexuosas características de estos virus	42	
Figura 7	a. Partículas virales isométricas de Southern rice black streaked dwarf virus (SRBSDV) (especie propuesta en el género <i>Fijivirus</i>) ensambladas en el citoplasma de células de plantas de arroz; b. Síntomas de enanismo severo (compárese el tamaño con respecto a las plantas asintomáticas aledañas) causados por SRBSDV en cultivos de arroz en inundación	44	{ 11 }
Figura 8	Virus y otros agentes infecciosos no celulares. a. Estructura de un virus isométrico con arreglo $\tau = 4$; b. Dominio amiloideo formador de prion de la proteína HET del hongo <i>Podospora anserine</i> ; c. Viroide (<i>Peach latent mosaic viroid</i> - PLMVD); d. RNA satélite (<i>satRNA</i>) del <i>Cucumber mosaic virus</i> (CMV)	45	
Figura 9	a. Planta de tabaco sana; b. Planta inoculada mecánicamente con savia de plantas infectadas por una mezcla de virus. Es posible observar los síntomas de mosaico, aclaramiento de venas y clorosis foliar	48	
Figura 10	Estructura de varilla rígida del <i>Tobacco mosaic virus</i> (TMV), constituida por múltiples proteínas globulares de cápside que protegen en su interior el genoma de +ssRNA	49	
Figura 11	Algunos medios de transmisión de virus de plantas. a. Plantas de arroz en inundación con una fuerte infestación de <i>Sogatella furcifera</i> , el delfácido vector del <i>Southern rice black streaked dwarf virus</i> (SRBSDV); b. Quistosoros de <i>Polymyxa graminis</i> , el vector del Rice stripe necrosis virus (RSNV) (especie propuesta del género <i>Benyvirus</i>) que causa la enfermedad del entorchamiento del arroz en Sudamérica; c. Plantas de cuscuta utilizadas en evaluaciones experimentales de transmisión de virus	49	
Figura 12	Diagrama de la estructura del virión del <i>Tomato spotted wilt virus</i> (TSWV), un virus con genoma segmentado de ssRNA (ambisentido), replicasa preformada y envoltura externa	50	

Figura 13	a. Síntomas de mancha de sol en frutos de aguacate infectados por <i>Avocado sunblotch viroid</i> (ASBVD); b. SDS-PAGE bidireccional que muestra dos configuraciones (circular y linear) del genoma del ASBVD	51
Figura 14	Estados iniciales y finales de la infección viral en cultivos de tamarillo. La virosis del tamarillo en Sudamérica la causa un complejo de al menos ocho virus; como consecuencia, se reduce la longevidad de los cultivos del frutal, se afecta la calidad de los frutos y, por último, tal como se puede observar en la fotografía, ocurre la defoliación completa de las plantas	51
Figura 15	Síntomas de infección viral en plantas indicadoras. a. <i>Chenopodium amaranticolor</i> inoculada con un potyvirus no identificado que induce manchas cloróticas locales; b. <i>Ipomoea setosa</i> con <i>Sweet potato feathery mottle virus</i> (SPFMV), que presenta una infección sistémica	52
Figura 16	a. Placa con 96 pozos para realización de pruebas de ELISA con anticuerpos policlonales y revelado por reacción de fosfatasa alcalina (coloración amarilla) para detección general de potyvirus; b. Decorado de una partícula filamentosa del <i>Sunflower mosaic virus</i> (SUMV) mediante la técnica de microscopía electrónica inmunoabsorbente (ISEM)	52
Figura 17	a. Electroforesis en gel de agarosa luego de adelantar una RT-PCR para detección del gen de la cápside del <i>Potato mop-top virus</i> (PMTV). En la primera línea del gel se presenta el marcador de peso molecular de 100 pb y en la 6, el control negativo; b. Resultado de una prueba de Dot-blot para la detección del <i>Tamarillo leaf malformation virus</i> (TALMV) (Potyvirus); se utilizaron diferentes concentraciones de virus	53
Figura 18	Detección del <i>Potato virus Y</i> (PVY) por RT-PCR en tiempo real mediante el empleo de <i>primers</i> específicos y sonda Taqman. Las curvas representan la amplificación de cada muestra. Nótese la falta de amplificación en el control negativo (línea azul inferior) después de 40 ciclos y las diferencias en valores ct (ciclo umbral)	53
{ 12 }		
Figura 19	Resultado del ensamblaje del genoma de una nueva variante del <i>Potato virus S</i> (PVS), identificada por pirosecuenciación en plantas de papa criolla (<i>Solanum phureja</i>) en Colombia. Ya que el RNA fue extraído mediante columnas afines a extremos 3' de poli-A, se presenta una mayor profundidad en la secuenciación de este extremo en comparación con la región 5'. En la parte superior se presenta la estructura genómica del PVS como base de comparación	54
Figura 20	Dendrograma circular basado en análisis de secuencias del gen de la cápside de diferentes variantes del <i>Potato virus S</i> (PVS) reportadas en el mundo. Se aprecian los altos niveles de divergencia de esta cuasiespecie viral. En las ramas se presentan los valores de <i>bootstrap</i> y entre paréntesis los números de acceso del GenBank de las secuencias	58
Figura 21	a. Principales grupos de virus de plantas (géneros y familias), agrupados según su genoma (ssDNA, dsDNA-RT, dsRNA y -ssRNA) y morfología de las partículas; b. Principales grupos de virus de plantas (géneros y familias), agrupados según su genoma (+ssRNA) y morfología de las partículas	65
Figura 22	Esquema general de clasificación de virus utilizando el sistema no formal de Baltimore. Se presentan las polimerasas que se emplean para la expresión de los genomas de los virus pertenecientes a cada uno de estos grupos. H: Hospedante; V: Viral	67
Figura 23	Morfología de partículas virales. a. Varilla flexuosa (helicoidal); b. Varilla rígida (helicoidal); c. Bacilar (con envoltura externa); d. Esférica o circular (con envoltura externa); e. Isométrica (icosaédrica); f. Compleja (bacteriófago); g. Pleomórfica	69

Figura 24	a. Alineamiento de secuencias de aminoácidos de la cápside de diferentes tobamovirus: <i>Tobacco mosaic virus</i> (TMV), <i>Tomato mosaic virus</i> (ToMV), <i>Bell pepper mottle virus</i> (BPMOV) (especie propuesta). Se indica la posición de las hélices α . El código de colores corresponde a la estructura que se presenta en b. Los rombos sobre el alineamiento marcan los aminoácidos que participan en el ensamblaje de las proteínas de cápside. Los triángulos en la parte inferior señalan los aminoácidos más conservados que interactúan con el RNA; b. Diagrama esquemático de la estructura tridimensional de una subunidad de cápside unido a su RNA genómico; c. Superficie molecular de la subunidad de cápside mostrada en b. Los colores indican las cargas: rojo: -, azul: +. Las estructuras corresponden al código del Protein Data Bank 2J06	70	
Figura 25	a. Partículas isométricas de un comovirus (30 nm de diámetro); b. Partículas isométricas geminadas de un begomovirus (22 nm x 38 nm A x L)	71	
Figura 26	Diagramas esquemáticos de la estructura de virus icosaédricos con diferentes números de triangulación. Los virus $\tau = 1$ tiene como unidad mínima de ensamblaje una sola proteína (A) que interactúa con dos proteínas idénticas para formar cada cara del icosaedro. En los virus $\tau = 3$ y $\tau = 4$ la subunidad mínima de ensamblaje requiere tres (A, B y C) y cuatro (A, B, C y D) proteínas de cápside, respectivamente	72	
Figura 27	Estructura de cápside $\tau = 1$ del <i>Tobacco necrosis satellite</i> . En (a) y (b) se ilustran las tres proteínas que conforman cada cara del icosaedro; se utiliza una representación de superficie y otra de estructura secundaria, respectivamente. En (c) se muestra la estructura completa de la cápside. Las estructuras mostradas corresponden al código del Protein Data Bank 2BUK	72	
Figura 28	Estructura de cápside $\tau = 3$ del <i>Tobacco necrosis virus</i> (TNV). En (a) y (b) se ilustran las tres proteínas que conforman la unidad mínima de ensamblaje del virus con una representación de superficie y otra de estructura secundaria, respectivamente. En (c) se muestra la estructura completa de la cápside. Las estructuras mostradas corresponden al código del Protein Data Bank 1c8N	73	{ 13 }
Figura 29	Modelo de la estructura interna de una porción de la cápside del <i>Tobacco mosaic virus</i> (TMV), cuya morfología es helicoidal (varilla rígida). Se puede observar el arreglo en espiral del genoma de +ssRNA y la constitución de la cápside a partir de múltiples protómeros globulares del mismo tipo	73	
Figura 30	Partículas helicoidales flexuosas de un potyvirus (~12 nm x 750 nm - A x L)	74	
Figura 31	Morfología de la partícula viral de un nucleorhabdovirus de plantas (75 nm x 180 nm - A x L). Los viriones presentan genoma de -ssRNA y dos proteínas preformadas: una replicasa viral y una fosfoproteína, ambas requeridas para dar inicio a la replicación del virus al ingresar en las células hospedantes	74	
Figura 32	Morfología compleja de un bacteriófago con sus componentes principales: cabeza, collar y cola	74	
Figura 33	a. Microscopía electrónica; b. Diagrama de partículas pleomórficas filamentosas del <i>Rice hoja blanca virus</i> (RHBV)	75	
Figura 34	Organización del genoma de +ssRNA (8747 nt) del <i>Citrus leaf blotch virus</i> (CLBV), con la indicación de la ubicación de sus ORF y los productos de su expresión. mtr: Metiltransferasa; P-Pro: proteasa tipo papaína; Hel: helicasa; RdRp: polimerasa de	77	

RNA dependiente de RNA; MP: proteína de movimiento; CP: proteína de la cápside. En la región intergénica ORF2-ORF3 y en las regiones terminales se presentan secuencias no codificantes y putativamente regulatorias (líneas). La región 5' del genoma está protegida por una caperuza de metil-guanosina y en el extremo 3' se presenta una cola de poliadenina

- Figura 35 Movimiento de virus de plantas mediante los plasmodesmos que conectan células adyacentes. El virus se puede desplazar como partícula ensamblada o en forma desnuda (solo su genoma), con ayuda de proteínas de movimiento de origen viral y de proteínas putativas del hospedante 78
- Figura 36 Estructuras secundarias en las regiones terminales UTR del genoma de un virus de +ssRNA. Es posible observar los diferentes tipos de lupas y asas, además de la presencia de una proteína viral de unión al genoma (vpg) en el extremo 5' y de una cola de poliadenina en el 3' 79
- Figura 37 Estructuras secundarias complejas generadas por la interacción entre nucleótidos del genoma viral y cuyas funciones incluyen desde el reconocimiento por parte de los ribosomas del hospedante hasta la regulación de la expresión genética y la interacción con proteínas del hospedante. a. Estructura del dominio central de un IRES (*internal ribosome entry site*) que permite el inicio de la traducción en mRNA virales sin caperuza en su extremo 5'; b. Estructura similar a un tRNA frecuente en los extremos 3' de algunos virus de RNA; c. Estructura de una región del genoma de virus de RNA que regula la síntesis de sgrRNA; d. Estructura de una región de un genoma retroviral que regula procesos traduccionales; e. Estructura de un potenciador traduccional (*enhancer*) ubicado en el extremo 3' de algunos virus de RNA. Las estructuras mostradas corresponden al código del Protein Data Bank 2BUK. Códigos del Protein Data Bank: a. (3T4B), b. (4P5J), c. (4PQV), d. (2LC8), e. (2KRL) 79
- Figura 38 Algunas variaciones estructurales de los extremos 5' y 3' de genomas de virus de RNA. a. Genoma sin caperuza (m7G5'pppG) en el extremo 5' y con presencia de poli-A en 3'; b. Genoma con caperuza (m7G5'pppG) en el extremo 5' y estructura similar a tRNA en 3'; c. Genoma con una proteína vpg unida a su extremo 5' y poli-A en 3'; d. Genoma sin estructuras anexas en las regiones terminales. Los textos internos se refieren a los nombres de los ORF definidos para cada virus particular (32 K, Hel, etc.) o a su denominación genérica (por ejemplo, ORF 1) 80
- Figura 39 Campo de arroz con síntomas de amarillamiento general, resultado de la infección por el *Rice grassy stunt virus* (RGSV) en el sudeste asiático. Se puede observar la similitud de los síntomas con los de deficiencias nutricionales (por ejemplo, de nitrógeno) en el cultivo 83
- Figura 40 Parcelas de evaluación de diferentes variedades de arroz ante la infección de *Rice hoja blanca virus* (RHBV). Se puede observar la sintomatología definida en los materiales susceptibles utilizados como bordes de las parcelas experimentales 84
- Figura 41 Deterioro generalizado de un cultivo de tamarillo, afectado por un complejo de virus en Colombia 84
- Figura 42 Efectos de infecciones virales sobre la calidad de dos frutos tropicales. a. Grabados y manchas anulares en la cáscara de frutos de papaya infectados por *Papaya ringspot virus* (PRSV); b. Grabados en la cascara de frutos de maracuyá, infectados por *Soybean mosaic virus* (SMV) 84

Figura 43	Síntomas causados por el <i>Tomato spotted wilt virus</i> (TSWV) sobre frutos de pimentón de dos variedades diferentes	85
Figura 44	Síntomas de deformación severa de tejido foliar de plantas de tomate infectadas por <i>Tomato yellow leaf curl virus</i> (TYLCV)	86
Figura 45	Síntomas de mosaico en a. <i>Cucurbita</i> sp. y de b. rayados localizados en banano, inducidos por <i>Cucumber mosaic virus</i> (CMV)	86
Figura 46	Síntomas de: a. Mosaicos; b. Necrosis de venas, inducidos por PVY en cultivos de papa de los Andes suramericanos	87
Figura 47	a. Síntomas de la enfermedad del mosaico de la yuca causada por un complejo de geminivirus que incluye <i>African cassava mosaic virus</i> (ACMV) y <i>East African cassava mosaic virus</i> (EACMV); b. Planta de yuca con un ataque severo de mosca blanca, el insecto vector de estos virus	87
Figura 48	Síntomas de deformación, decoloración y manchado de frutos de cereza (enfermedad de <i>Sharka</i>) causados por <i>Plum pox virus</i> (PPV)	88
Figura 49	Síntomas de decaimiento inducidos por un complejo de virus que incluye al CTV en cítricos	88
Figura 50	a. Síntomas de mosaico suave en papa causado por <i>Potato virus X</i> (PVX); b. Anillos necróticos causados por una cepa NTN del <i>Potato virus Y</i> (PVY)	89
Figura 51	Síntomas de complejos de enfermedades virales en cultivos de papa de Colombia. a. Amarillamiento de venas; b. Mosaico de tejido foliar; c. Verdeamiento de venas; d. Moteados foliares	90
Figura 52	Síntomas de amarillamiento severo inducidos por <i>Potato yellow vein virus</i> (PVV) en cultivos de papa de la región andina	91 { 15 }
Figura 53	a. Síntomas de mosaico tipo aucuba, causados por <i>Potato mop-top virus</i> (PMTV) en tejido foliar de papa; b. Síntomas de sarna polvosa en tubérculos causados por el vector de PMTV el plasmodiofórido <i>S. subterranea</i>	91
Figura 54	Síntomas de aclaramiento de venas y mosaico rugoso inducidos por <i>Sweet potato feathery mottle virus</i> (SPMFV) en la planta indicadora <i>Ipomoea setosa</i>	92
Figura 55	Síntomas causados por virus en diferentes plantas ornamentales. a. Virus no identificado en anturios (<i>Anthurium</i> sp.); b. Hojas de crisantemos con amarilleamientos inducidos posiblemente por <i>Tomato aspermy virus</i> (TAV) (antes <i>Chrysanthemum aspermy virus</i>); c. Hojas de <i>Spathyphyllum</i> con síntomas de mosaico inducidos por un virus no identificado; d. síntomas de rayado en hojas de <i>Heliconia caribaea</i> , posiblemente causado por <i>Banana streak virus</i> (BSV)	92
Figura 56	Síntomas inducidos por el <i>Chrysanthemum stunt viroid</i> (CSVd) en plantas de crisantemo	93
Figura 57	Síntomas causados en plantas de orquídea por <i>Cymbidium mosaic virus</i> (CYMMV). a. Mosaico de pétalos; b. Clorosis foliar; c. Clorosis y manchas necróticas profundas por <i>Odontoglossum ringspot virus</i> (ORSV); d. Bandeados necróticos; e. Bandeados cloróticos	94
Figura 58	Síntomas de clorosis generalizada y enanismo causados por <i>Rice yellow mottle virus</i> (RYMV) en cultivos de arroz de África	97
Figura 59	Síntomas locales inducidos por la inoculación mecánica de virus en plantas indicadoras. a. Manchas cloróticas; b. Manchas necróticas	98

Figura 60	Algunas plantas indicadoras utilizadas para evaluar la infección viral de un hospedante en estudio. a. Inoculación de <i>Sweet potato feathery mottle virus</i> (SPFMV) en <i>Ipomoea setosa</i> ; b. Inoculación de <i>Sweet potato mild mottle virus</i> (SPMMV) en <i>Nicotiana debneyi</i> ; c y d. Inoculación del potyvirus <i>Sunflower chlorotic mottle virus</i> (SUCMOV) en plantas indicadoras	99
Figura 61	Síntomas sistémicos provocados por un complejo viral en plantas de tamarillo en los Andes suramericanos. a-b. Amarillamiento intervenal; c. Anillos necróticos; d. Bandeamiento de nervaduras; e-f. Bronceamiento; g-h. Aclaramiento; i. Moteados; j-k. Islas verdes y ampollas; l. Manchas aceitosas; m. Cambios de color en flores; n. Grabados y cambios de color en cáscara de frutos; o. Deformación de brotes; p. Defoliación y marchitamiento general de plantas	100
Figura 62	a. Mosaico común del frijol causado por el <i>Bean common mosaic virus</i> (BCMV); b. Mosaico causado por <i>Potato virus Y</i> (PVY) en papa; c. Estriados en hojas de maíz causados por un nucleorhabdovirus no identificado; d. Rayado causado por <i>Maize rayado fino virus</i> (MRFV)	101
Figura 63	a. Amarillamiento de venas causado por <i>Potato yellow vein virus</i> (PVV); b. Moteados en plantas de papa inducidos por <i>Potato mop-top virus</i> (PMTV)	101
Figura 64	a. Cambios en la coloración; b. Deformación de frutos de tamarillo en crecimiento, infectados por un complejo de virus en los Andes suramericanos	102
Figura 65	a. Planta de cítricos completamente marchita como resultado de la infección múltiple por <i>Citrus leprosis virus</i> (CiLV) y <i>Citrus tristeza virus</i> (CTV); b. Psorosis en tangelo Minneola causada por <i>Citrus psorosis virus</i> (CPSV)	102
{ 16 }	Figura 66 Síntomas de rayados foliares y necrosis inducidos por el <i>Banana streak virus</i> (BSV) en diferentes tejidos de plantas de banano	103
Figura 67	a. Anillos concéntricos inducidos por <i>Papaya ringspot virus</i> (PRSV) en frutos de papaya; b. Grabados sobre tejido foliar de tamarillo inducidos por un complejo viral	103
Figura 68	a. Deformación de tejidos foliares de papaya infectada por <i>Papaya ringspot virus</i> (PRSV); b. Deformación de tejidos foliares de tamarillo infectado por un complejo de virus	104
Figura 69	a. Frutos de granadilla con síntomas de anillos y grabados resultado de infección viral por <i>Soybean mosaic virus</i> (SMV); b. Fruto de calabacín con deformaciones inducidas por el <i>Zucchini yellow mosaic virus</i> (ZYMV)	104
Figura 70	a. Plantas de papa infectadas por <i>Potato leafroll virus</i> (PLRV); muestra bajo crecimiento y desarrollo en comparación con otras plantas cultivadas en las mismas condiciones; b. Plantas de caña de azúcar infectadas por <i>Fiji disease virus</i> (FDV) con una notable reducción de su crecimiento	105
Figura 71	Inclusiones citoplasmáticas no cristalinas tipo <i>pinwheels</i> inducidas por potyvirus en células de plantas hospedantes, observadas con: a. Microscopía electrónica de transmisión; b. Microscopía óptica	106
Figura 72	Invernadero utilizado para realizar evaluaciones experimentales de virus de plantas, incluso pruebas de rango de hospedantes. En el caso de la ilustración se emplearon diferentes especies de plantas para evaluar el rango de un nuevo pomovirus que afecta solanáceas en Suramérica	107
Figura 73	Tipos de insectos que pueden transmitir virus de plantas. a. Cicadélido; b. Áfidos; c. Trips; d. Crisomélido; e. Delfácido; f. Escama harinosa	109

Figura 74	Infestación de insectos transmisores de virus en plantas. a. Áfidos (alados); b. Moscas blancas; c. Cochinillas; d. Delfácidos	111	
Figura 75	Tipos de transmisión de virus de plantas por parte de insectos vectores	111	
Figura 76	Quistosoros (estructuras de resistencia) y agallas en raíces de papa inducidas por <i>Spongospora subterranea</i> , el vector del <i>Potato mop-top virus</i> (PMTV)	113	
Figura 77	a. Quistosoros (estructuras de resistencia) de <i>Polymyxa graminis</i> ; b. Plasmodiofórido vector del <i>Rice stripe necrosis virus</i> (RSNV), que causa la enfermedad denominada entorchamiento del arroz	114	
Figura 78	Nematodos transmisores de virus de plantas. a. <i>Longidorus</i> ; b. <i>Xiphinema</i> ; c. <i>Paratrichodorus</i> . Se pueden comparar los largos estiletes rectos (odontoestiletes) de <i>Longidorus</i> y <i>Xiphinema</i> con aquel curvo (onquiostilete) de <i>Paratrichodorus</i>	115	
Figura 79	Anatomía de las semillas sexuales de plantas mono y dicotiledóneas. Se indican los posibles mecanismos de transmisión de virus por esta vía	117	
Figura 80	Diferentes sistemas de multiplicación asexual de plantas de importancia económica en el trópico; se constituyen en medios excepcionales de dispersión de virus. a. Tubérculos de papa; b. Cormos de musáceas; c. Esquejes de plantas de vainilla	118	
Figura 81	Plántulas de orquídeas propagadas por cultivo de tejidos del meristemo apical que muestran: a. Síntomas de amarillamiento; b. Deformación; c. Proliferación de brotes por causa de la infección por <i>Cymbidium mosaic virus</i> (cymmv); d. Diagrama del procedimiento del cultivo <i>in vitro</i> de meristemos para generar plantas libres de virus. Nótese la importancia de utilizar la región más apical de este tejido para obtener efectivamente propágulos no infectados	119	
Figura 82	Procedimiento de inoculación mecánica del <i>Sunflower chlorotic spot virus</i> (sucsv) sobre plantas indicadoras. a. Maceración en presencia de tampón fosfato del tejido infectado por el sucsv; se utiliza un mortero y un cilindro cónico o pistilo; b. Inoculación de plantas indicadoras; c. Apariencia general de la planta inoculada luego de varios días de incubación; d. Síntomas locales (manchas cloróticas) y sistémicos (amarillamiento de venas secundarias) en las hojas inoculadas	120	{ 17 }
Figura 83	Plantas de <i>Cuscuta</i> spp. utilizadas para la transmisión de virus en condiciones experimentales	120	
Figura 84	Ciclo infectivo de un virus de +ssRNA transmitido por un insecto vector. En este caso el RNA genómico actúa directamente como mRNA para algunos de sus ORF	123	
Figura 85	Esquema general de la actividad de las replicasas virales. En este caso, una RdRp en un virus con +ssRNA como genoma que presenta como principal estrategia de expresión la generación de RNA subgenómicos (sgrNA)	125	
Figura 86	El concepto de <i>open reading frames</i> (ORF). Los marcos de lectura +1, +2 y +3 se refieren a la posición dentro del codón que da inicio al proceso de traducción de proteínas	126	
Figura 87	Estructura general del gen eucariótico y del proceso de expresión genética en células vegetales. Los virus han ajustado sus genomas y mecanismos genéticos a las características estructurales y funcionales de estos procesos en sus células hospedantes	126	
Figura 88	Proceso general de síntesis de proteínas (traducción) en las células eucarióticas. El ensamblaje del ribosoma eucariótico 80S da inicio a un proceso en el que interactúan tripletas de nucleótidos del mRNA (codones) con los anticodones de los aa-tRNA, lo que da lugar a la generación de enlaces peptídicos entre los aminoácidos respectivos y a la	127	

elongación de los polipéptidos hasta que se presente el codón de parada, sitio en el cual se desensamblan los ribosomas y se libera el polipéptido resultante

{ 18 }

- Figura 89 Proceso de ensamblaje del complejo de iniciación traduccional en los ribosomas eucarióticos y su comparación con la ocurrencia de estructuras secundarias en el genoma de virus de RNA. En este caso se presentan sitios internos de unión (IRES) de factores de inicio que dan lugar a la traducción de ORF, ubicados en sitios diferentes al extremo 5' del genoma o transcripto viral 128
- Figura 90 Estrategia de expresión de poliproteína en la que un gran ORF presente en el genoma viral da origen a una multiproteína que es posteriormente clivada por proteasas virales para generar las proteínas maduras y funcionales del virus 129
- Figura 91 Producción de RNA subgenómicos como una estrategia de virus de dsRNA (a.) y de +ssRNA (b.) para la expresión de ORF no ubicados en el extremo 5' del genoma viral 130
- Figura 92 Virus con genoma multipartita consistente de tres segmentos encapsidados en partículas independientes. Este virus multicomponente se produce además un sgrNA (RNA 4) que se incorpora en conjunto con el RNA 3 en una misma partícula 130
- Figura 93 Representación de un genoma ambisentido en el cual ambas cadenas, vs (5'-3') y vc (3'-5'), codifican para proteínas virales. En estos virus es frecuente encontrar estructuras secundarias tipo asas que actúan como señales de finalización de la traducción 131
- Figura 94 Estrategia de codones de inicio goteantes (*leaky scanning*) para la expresión de diferentes proteínas virales a partir de una misma secuencia. En este caso un codón de inicio débil o goteante (por ejemplo, ACG o AUG en el contexto de la secuencia de Kozak) es ignorado por el complejo de inicio ribosomal, de manera que la subunidad 40S continua con la búsqueda de codones de inicio posteriores 132
- Figura 95 El cambio de vía traduccional (*Ribosomal shunting*) es una estrategia de expresión viral en la que la traducción comienza con el rastreo de pequeños ORF para luego pasar a ORF funcionales ubicados después. Este mecanismo depende de la presencia de caperuzas en los mRNA y de grandes regiones internas con estructuras secundarias complejas (*large internal leader regions*) 132
- Figura 96 La estrategia de lectura continua (*readthrough*) o de supresión de terminación depende de la presencia de codones de finalización débiles que, en presencia de un contexto de secuencias específico, los usan algunos virus para dar lugar a proteínas similares en su extremo amino y diferentes en el carboxilo 133
- Figura 97 Esquema representativo del efecto del cambio de lectura +1 y -1 sobre los polipéptidos, como resultado de la estrategia de expresión viral denominada *frameshift* 134
- Figura 98 Mecanismos que operan durante la traducción de ORF virales como resultado de la estrategia de *frameshift* +1 y -1. Se puede observar que el cambio de lectura -1 juega un papel fundamental la presencia de un pseudonudo estructural que impide la llegada del tRNA con el anticodón correspondiente e induce el regreso del ribosoma al codón anterior en una posición 134
- Figura 99 Diagrama del proceso de replicación de virus con genomas de +ssRNA. a. Se observa que en este caso la replicasa viral primero se sintetiza como resultado de la traducción de una porción del genoma viral; b. Su acción opera al interior de una vesícula inducida en el citoplasma de la célula hospedante, como una estrategia para evitar la degradación de las formas e intermediarios replicativos de doble cadena; c. De esta forma se generan múltiples copias del genoma viral de +ssRNA 136

Figura 100	Diagrama del proceso de replicación de virus con genomas de -ssRNA. Se puede observar la ocurrencia de ribonucleoproteínas filamentosas y de cómo se generan copias de +ssRNA e intermediarios replicativos de dsRNA que servirán, a su vez, de molde para la síntesis por parte de la replicasa viral de múltiples copias del genoma de -ssRNA	136
Figura 101	Diagrama del proceso de replicación de pararetrovirus con genomas de dsDNA-(RT). Se puede observar que el RNA pregenómico (pgRNA) es el molde que da inicio a la replicación y que por acción de una retrotranscriptasa y de <i>primers</i> específicos (por ejemplo, DR-cap) se originan moléculas de dsDNA, según la dirección de motivos altamente conservados en el genoma viral (como DR1 y DR2)	138
Figura 102	Diagrama del proceso de replicación de virus con ssDNA como genomas. Este sistema opera con el mecanismo de círculo rodante, en el que, a partir de un molde de dsDNA, se generan múltiples copias continuas de ssDNA, por acción de una DNA polimerasa del hospedante con dominio de proteínas de control del virus (por ejemplo, Rep)	139
Figura 103	Diagrama esquemático del resultado del experimento clásico desarrollado por Samuel en 1934 sobre el movimiento sistémico del <i>Tobacco mosaic virus</i> (TMV) en plantas de tomate. Se puede notar que en este caso el virus primero infecta la radícula en el día 4 y luego se desplaza al brote apical un día después. Transcurridos 25 días, virtualmente toda la planta presenta infección viral	140
Figura 104	Esquema general de defensa en plantas mediada por genes dominantes y recesivos de resistencia a virus	144
Figura 105	Esquema general de la respuesta mediada por proteínas de señalización NB-LRR ante la detección de proteínas de la cápside viral	145
Figura 106	Mecanismo general de silenciamiento de genes involucrado en la defensa de las plantas contra las infecciones virales. Este sistema depende de la generación de miRNA que se utilizan como guía para dirigir la acción de clivaje del genoma viral por parte del complejo RISC	147
Figura 107	Esquema general de los procesos de introducción de genes de resistencia a virus de plantas mediante estrategias de mejoramiento convencional y transgénesis	149
Figura 108	Esquema general de generación de plantas transgénicas con el uso de la bacteria <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	151
Figura 109	Algunos agroecosistemas tropicales. a. Cultivos mixtos; b. Monocultivo; c. Explotaciones agropastoriles; d. Pasturas para ganadería intensiva y extensiva	155
Figura 110	La práctica de identificación y eliminación de plantas infectadas por enfermedades virales es clave para evitar focos de enfermedad en los cultivos. a. Lote de papa con plantas con amarillamiento de venas causado por <i>Potato yellow vein virus</i> (PVV) que es fácil de identificar y susceptible de eliminación temprana; b. Campo de arroz con sintomatología de amarillamiento general causado por <i>Rice yellow mottle virus</i> (RYMV); en la fase que se registra, resulta poco práctico eliminar las plantas sintomáticas	159
Figura 111	a. El uso de barreras vivas puede ser una práctica útil para evitar la llegada masiva de vectores de virus a los cultivos; b. sin embargo, una mala selección con plantas hospedantes alternas de los virus del cultivo principal puede ser perjudicial. En el caso que se ilustra, plantas silvestres de cucurbitáceas son fuente de inóculo de CMV para diferentes frutales tropicales	160

{ 20 }

Figura 112	La presencia de plantas infectadas por virus en los cultivos puede conducir a un efecto de compensación en las plantas sanas, al presentar menores niveles de competencia. En ambas fotografías se puede observar el poco desarrollo de plantas infectadas por <i>Potato leafroll virus</i> (PLRV), en comparación con las plantas asintomáticas que las rodean	161
Figura 113	La preparación adecuada de sitios de siembra para el establecimiento de frutales es una práctica de gran valor no solo para efectos nutricionales, al evitar competencia de arvenses con las plantas en desarrollo, sino fitosanitarios, al disminuir la presencia de posibles hospedantes alternos de virus	161
Figura 114	a. Cultivo de papa con mezclas varietales (flores blancas y moradas) resultado de las deficiencias en las prácticas de selección y certificación de tubérculo-semilla en diferentes países tropicales y subtropicales; b. Tubérculos de papa con vejigas iniciales asociadas a la presencia de <i>Spongospora subterranea</i> , plasmodiofórido vector del <i>Potato mop-top virus</i> (PMTV)	162
Figura 115	Bancos de propagación de plantas. a. Sin protección efectiva contra posibles vectores de virus; b. Con malla antiáfidos para evitar la llegada y dispersión de virus	162
Figura 116	Establecimiento de plantas madre de banano en cobertizos artesanales para propagar plantas libres de <i>Banana streak virus</i> (BSV)	163
Figura 117	a. Laboratorio de diagnóstico de virus; b-c. Reactivos, kits; d. Equipos especializados para realizar pruebas serológicas como lectores de ELISA; e. Pruebas moleculares como termocicladores; f. RT-PCR	163
Figura 118	a. Semillas certificadas de frijol tratadas por productos insecticidas y fungicidas para evitar plagas y patógenos del suelo y tener un efecto residual insecticida durante los primeros estados de desarrollo de las plántulas; b. Selección y limpieza de porciones de cormos de banano para el establecimiento de bancos de plantas madres libres de <i>Banana streak virus</i> (BSV)	164
Figura 119	Poda de formación en frutales, que favorece la aireación interna de las plantas y facilita los procesos de recolección y cosecha de frutos	165
Figura 120	Rotación de un cultivo semiperenne (tamarillo) con uno semestral (frijol), con el uso de los tallos del primero como tutores. La rotación es un proceso técnico que requiere considerar aspectos edáficos, fitopatológicos, entomológicos, etc.	165
Figura 121	Infestación de áfidos en plantas arvenses, que pueden servir de fuente de inóculo de patógenos virales para los cultivos agrícolas	165
Figura 122	Estructura de viriones de geminivirus que presenta las partículas geminadas con simetría isométrica incompleta del tipo $T = 1$ y una sola molécula de ssDNA (genoma monopartita)	169
Figura 123	Estructura genómica de virus representantes de los cuatro géneros de la familia <i>Geminiviridae</i> . Se puede observar la presencia de ORF con diferente orientación en los genomas circulares de ssDNA	170
Figura 124	Diagrama del proceso de replicación por círculo rodante de virus con ssDNA como genoma. La cadena vs se convierte a dsDNA por las polimerasas de DNA del hospedante (1). Luego de la expresión de la proteína Rep, esta se une y genera rupturas (nicks) en la cadena vs (2) y se da inicio al proceso de replicación, que provoca desplazamiento de la cadena vc y la generación de las nuevas copias del genoma de ssDNA (3, 4, 5). Finalmente, comienza un nuevo ciclo de replicación que dará origen a nuevas copias vs (6)	171

Figura 125	Síntomas de rayados foliares causados por <i>Maize streak virus</i> (MSV) en plantas de maíz	172
Figura 126	Síntomas de clorosis de venas y enanismos causados por <i>Bean golden yellow mosaic virus</i> (BGYMV) en plantas de frijol	173
Figura 127	Estructura genómica de los begomovirus bipartitas. La región intergénica común tiene la secuencia conservada TAATATTAC (CRA y CRB). CP: proteína de cápside; Rep: proteína asociada a la replicación; TRAP: proteína activadora de la transcripción; Ren: multiplicador (<i>enhancer</i>) de la replicación; MP: proteína de movimiento; NSP: proteína de señalización nuclear (<i>nuclear shuttle protein</i>)	173
Figura 128	Síntomas de mosaicos severos causados por <i>African cassava mosaic virus</i> (ACMV) en cultivos de yuca	173
Figura 129	a. Morfología de viriones de caulimovirus isométricos (45-50 nm); b. Baciliformes (30 nm de ancho x 60-900 de largo). Ambos grupos presentan genoma de dsDNA circular con discontinuidades en ambas cadenas	175
Figura 130	Organización genómica de virus de cuatro géneros de la familia <i>Caulimoviridae</i> . Se nota el número variable de ORF que contienen los diferentes miembros de esta familia y la estrategia de poliproteína que presentan los badnavirus	176
Figura 131	Mecanismo general de replicación de un pararetrovirus. El genoma de dsDNA se libera al interior del núcleo del hospedante y se sellan las discontinuidades (<i>gaps</i>) por las polimerasas celulares. Este minicromosoma sirve de molde para la síntesis de RNA pregenómico (pgRNA) por parte de la RNA polimerasa II. El pgRNA se transporta al citoplasma para dar inicio a la traducción de proteínas virales y para su posterior retrotranscripción por parte de la RT. El dsDNA resultante con sus respectivas discontinuidades se ensambla en nuevas partículas virales	177
Figura 132	Síntomas de hinchazón de brotes en cacao causados por <i>Cacao swollen shoot virus</i> (CSSV)	178
Figura 133	Síntomas de rayado foliar causados por <i>Banana streak virus</i> (BSV)	178
Figura 134	Genoma de dsDNA de 7,2 kb de un badnavirus que presenta tres ORF principales y se expresa por transcripción de mRNA con caperuzas y colas de poli-A en sus extremos 5' y 3', respectivamente	179
Figura 135	a. Insectos escamas (cochinillas harinosas) transmisoras del <i>Banana streak virus</i> (BSV); b. Síntomas causados por este virus en frutos; c-d. Hojas de banano	179
Figura 136	Genoma y estrategias de expresión del <i>Rice tungro bacilliform virus</i> (RTBV). El virus presenta genoma de dsDNA de 8 kb con discontinuidades en ambas cadenas. Utiliza las estrategias de expresión de poliproteína, <i>leaky scanning</i> y <i>splicing</i> de intrones	180
Figura 137	a. Síntomas generales de amarillamientos, enanismos y reducción en la población de plantas de arroz infectadas por <i>Rice tungro bacilliform virus</i> (RTBV); b. Detalle de plantas infectadas por RTBV. Se puede observar las clorosis intervenales y el amarillamiento descendente de los brotes de nuevas láminas foliares	180
Figura 138	Estructura de viriones de los tospovirus de plantas. Este virus tiene tres segmentos (S, M y L) de +/-ssRNA como genoma, envoltura externa, replicasa preformada y morfología esférica con diámetros de 80 a 120 nm	183
Figura 139	Organización del genoma y estrategias de expresión de proteínas en diferentes bunyavirus, incluyendo los tospovirus que infectan hospedantes vegetales y que presentan dos segmentos genómicos (S y M) ambisentidos	184

{ 22 }

Figura 140	Ciclo de infección general de los bunyavirus. Se puede observar el ensamblaje de las partículas en proximidades del aparato de Golgi y su salida de la célula por exocitosis (no en tejidos vegetales)	184
Figura 141	Organización del genoma y estrategias de expresión de proteínas del <i>Tomato spotted wilt virus</i> (TSWV) que incluyen sGRNA	185
Figura 142	Síntomas de deformación de frutos por infección del <i>Tomato spotted wilt virus</i> (TSWV) en pimiento	186
Figura 143	Morfología de los tenuivirus. Sus viriones contienen de cuatro a seis nucleocápsides sin envoltura externa y de 3-10 nm de diámetro	186
Figura 144	Características de los genomas segmentados y ambisentidos del <i>Rice grassy stunt virus</i> (RGSV) y <i>Maize stripe virus</i> (MSPV)	187
Figura 145	Estructura del genoma de tenuivirus y estrategias de expresión ambisentido	188
Figura 146	a. Síntomas de rayados y clorosis causados por <i>Rice hoja blanca virus</i> (RHBV); b. Adultos y ninfas de <i>Tagosodes orizicolus</i> , vector del RHBV	188
Figura 147	Morfología bacilar de los viriones de rhabdovirus de plantas, con tamaños de 180 nm de largo por 75 nm de ancho. Se puede observar la ribonucleocápside filamentosa al interior de la partícula y la presencia de replicasa y fosfoproteína preformada	189
Figura 148	Estructura genómica de nucleorhabdovirus y cytorhabdovirus que codifica para seis ORF y presenta -ssRNA de 11 a 15 kb	190
Figura 149	Síntomas causados por cytorhabdovirus en plantas de trigo. Se pueden observar los estriados cloróticos y la deformación de espigas lo que termina por producir reducciones considerables en el rendimiento de los cultivos	191
Figura 150	Síntomas de rayados y amarillamientos causados por nucleorhabdovirus serológicamente relacionado con <i>Maize mosaic virus</i> (MMV) en cultivos de maíz	192
Figura 151	Morfología de los viriones de fijivirus. Se puede observar la estructura de doble cápside de 65-70 nm de diámetro, así como la división del genoma de dsRNA en múltiples segmentos y la RdRp preformada en el interior de la partícula	195
Figura 152	Organización genómica de oryzavirus que contiene 10 segmentos de dsRNA y codifica para 12 proteínas	196
Figura 153	Organización genómica de fijivirus que contiene diez segmentos de dsRNA y codifica para doce proteínas	197
Figura 154	Síntomas de agallas y rayados foliares causados por la especie propuesta <i>Southern rice black-streaked dwarf virus</i> del género <i>Fijivirus</i> (SRBSDV) (a), transmitido por el delfácido <i>Sogatella furcifera</i> (b)	198
Figura 155	Morfología de los viriones de phytoreovirus. Se puede observar la estructura de triple cápside de 70 nm de diámetro, así como la división del genoma de dsRNA en múltiples segmentos y la RdRp preformada en el interior de la partícula	199
Figura 156	Organización genómica de phytoreovirus que contiene doce segmentos de dsRNA y codifica para doce proteínas	199
Figura 157	Morfología del virión helicoidal de un miembro de la familia <i>Virgaviridae</i> . Dependiendo del virus, se pueden presentar de una a tres partículas con longitudes variables y de 20-25 nm de diámetro	204

Figura 158	Morfología del virión del <i>Potato mop-top virus</i> (PMTV) consistente de tres partículas de varillas rígidas, cada una provista de una molécula de +ssRNA	204	
Figura 159	Organización genómica del <i>Potato mop-top virus</i> (PMTV), que contiene tres segmentos de +ssRNA y utiliza diferentes estrategias de expresión de proteínas, incluyendo <i>Readthrough</i> y <i>sgRNA</i>	205	
Figura 160	a. Síntomas de mosaico tipo <i>aucuba</i> en plantas de papa infectadas por <i>Potato mop-top virus</i> (PMTV); b. Síntomas sistémicos en una planta indicadora de <i>N. benthamiana</i> inoculada con PMTV	206	
Figura 161	Organización genómica del <i>Tobacco mosaic virus</i> (TMV) que contiene un segmento de +ssRNA de 6,4 kb y utiliza diferentes estrategias de expresión de proteínas, incluyendo <i>frameshift</i> y <i>sgRNAs</i>	206	
Figura 162	a. Síntomas de mosaico y disminución del tamaño de la lámina foliar de tabaco causado por <i>Tobacco mosaic virus</i> (TMV); b-c. Manchas necróticas anilladas causadas por <i>Odontoglossum ringspot virus</i> (ORSV) en orquídeas	207	
Figura 163	Morfología del virión de potyvirus, consistente de una varilla flexuosa de 650-900 nm de longitud x 11-15 nm de diámetro y una molécula de +ssRNA como genoma	207	
Figura 164	Inclusiones citoplasmáticas inducidas por potyvirus en las células de sus hospedantes. a. Tipo cilíndricas - agregados laminares; b. Tipo espirales (<i>pinwheels</i>)	208	
Figura 165	a-b. Síntomas de mosaico y manchas anulares en frutos de papaya por infección de <i>Papaya ringspot virus</i> (PRSV); c-d. Deformación de frutos y hojas de calabacín por <i>Zucchini yellow mosaic virus</i> (ZYMV)	208	
Figura 166	Organización genómica de potyvirus que contiene un segmento de +ssRNA de 9,7 kb y utiliza la estrategia de expresión poliproteína para dar origen a 10 proteínas maduras. Además, P3N-PIPO se expresa por <i>frameshift</i> -1 a partir de la secuencia que codifica para P3	209	{ 23 }
Figura 167	a. Síntomas de bandeado oscuro de nervaduras de hojas de frijol causado por el <i>Bean common mosaic virus</i> (BCMV); b. Síntomas de mosaico con deformación de brotes inducido por <i>Soybean mosaic virus</i> (SMV)	210	
Figura 168	Síntomas en plantas de papa de mosaico y anillos necróticos de tubérculos causados por las razas PVY-O y PVY-NTN, respectivamente	211	
Figura 169	Morfología del virión de un miembro de la familia <i>Alphaflexiviridae</i> , consistente de una varilla flexuosa de 470-800 nm de longitud por 12-13 nm de diámetro y una molécula de +ssRNA como genoma	211	
Figura 170	Organización genómica de alphaflexovirus que contiene un segmento de +ssRNA de 8,8 kb y utiliza la estrategia de expresión <i>sgRNA</i> para dos de sus ORF	212	
Figura 171	Síntomas de mosaico causados por <i>Potato virus x</i> (PVX) en plantas de papa	212	
Figura 172	Organización genómica del <i>Potato virus x</i> (PVX) que contiene un segmento de +ssRNA de 6,4 kb y utiliza las estrategias de expresión <i>sgRNA</i> y <i>leaky scanning</i> (rastreo ribosomal)	212	
Figura 173	a. Síntomas de clorosis y manchas necróticas de la lámina foliar; b. Mosaicos de flores de orquídeas causados por <i>Cymbidium mosaic virus</i> (cymv)	213	
Figura 174	Morfología del virión de un miembro de la familia <i>Betaflexiviridae</i> , consistente de una varilla flexuosa de 600-1.000 nm de longitud por 12-13 nm de diámetro y una molécula de +ssRNA de 6,5 a 9 kb	214	

	Figura 175	Organización genómica del <i>Citrus leaf blotch virus</i> (CLBV) que contiene un segmento de +ssRNA de 8,7 kb y utiliza la estrategia de expresión sgrna para dos de sus ORF	214
	Figura 176	Organización genómica del <i>Potato virus s</i> (PVS), un carlavirus que contiene un segmento de +ssRNA de 8,7 kb y utiliza la estrategia de expresión sgrna para varios de sus ORF	215
	Figura 177	Morfología del virión de un miembro de la familia <i>Luteoviridae</i> , consistente de una partícula isométrica de 25-30 nm de diámetro y una molécula de +ssRNA como genoma de 5,6 a 6 kb	216
	Figura 178	Plantas de trigo con falta de desarrollo radicular y aéreo (enanismo) (compárese con planta control no infectada), amarillamientos y hojas con coloraciones rojizas o purpúreas, como resultado de la infección por <i>Barley yellow dwarf virus</i> (BYDV)	217
	Figura 179	Organización genómica del <i>Potato leafroll virus</i> (PLRV), polerovirus que contiene un segmento de +ssRNA de 6 kb y utiliza diversas estrategias de expresión incluyendo sgrna, rastreo ribosomal (<i>leaky scanning</i>), cambio en el marco de lectura (<i>frameshift</i>) y lectura continua (<i>readthrough</i>)	218
	Figura 180	a. Síntomas de enrollamiento foliar; b. falta de desarrollo (enanismo) causados por <i>Potato leafroll virus</i> (PLRV) en papa	219
	Figura 181	Morfología del virión de un miembro de la familia <i>Closteroviridae</i> , consistente en una varilla flexuosa de 1.200-2.200 nm de longitud x 10-13 nm de diámetro y una molécula de +ssRNA como genoma de 15 a 20 kb	219
	Figura 182	Organización genómica del <i>Citrus tristeza virus</i> (CTV) que contiene un segmento de +ssRNA de 19,2 kb y utiliza diversas estrategias de expresión incluyendo poliproteína, sgrna y cambio en el marco de lectura (<i>frameshift</i>)	220
{ 24 }	Figura 183	Acanaladuras en corteza de cítricos causadas por la infección de <i>Citrus tristeza virus</i> (CTV)	220
	Figura 184	Morfología del virión de un miembro del género <i>Crinivirus</i> que consiste en dos varillas flexuosas de 650-850 nm y 700-900 nm de longitud por 10-13 nm de diámetro. Cada partícula tiene una molécula de +ssRNA de 7,2 a 8,1 kb	221
	Figura 185	Organización genómica del <i>Potato yellow vein virus</i> (PVV) que contiene tres segmentos de +ssRNA de 8, 5,3 y 3,8 kb y utiliza diversas estrategias de expresión incluyendo genoma multipartita y cambio en el marco de lectura (<i>frameshift</i>)	222
	Figura 186	Síntomas de amarillamientos de venas causados por <i>Potato yellow vein virus</i> (PVV) en cultivos de papa de los Andes suramericanos	222
	Figura 187	Síntomas de rayados, acortamiento de entrenudos y deformación de espigas en maíz causados por un rhabdovirus cuya especie no se ha identificado y por el <i>Maize dwarf mosaic virus</i> (MDMV)	226
	Figura 188	Síntomas de rayados y bandeados causados <i>Wheat streak mosaic virus</i> (WSMV)	227
	Figura 189	Microfotografías electrónicas de partículas geminadas del <i>Maize streak virus</i> (MSV)	228
	Figura 190	Síntomas causados por <i>Maize streak virus</i> (MSV) en plantas de maíz (se puede comparar la plata enferma con las sanas en el fondo)	229
	Figura 191	a. Ninfas de tercer estadio; b. adulto de <i>Delphacodes kuscheli</i> , vector del <i>Mal de Río Cuarto virus</i> (MRCV)	229
	Figura 192	Síntomas de enrollamiento foliar con bordes de hoja cortados, bandas cloróticas paralelas al margen y enaciones de nervaduras causadas por <i>Mal de Río Cuarto virus</i> (MRCV) en trigo	230

Figura 193	Síntomas causados por <i>Maize rayado fino virus</i> (MRFV) en tejido foliar de maíz	231
Figura 194	a. Síntomas de rayados foliares paralelos a los haces vasculares; b. Apariencia de roseta de planta de maíz, como resultado de la infección por un nucleorhabdovirus serológicamente relacionado con <i>Maize mosaic virus</i> (MMV); c. Delfácidos transmisores de MMV; d. Enanismo severo causado por infección de MMV en plantas de maíz; e-f. Síntomas de rayados causados por <i>Maize stripe virus</i> (MSPV) en maíz	233
Figura 195	Síntomas inducidos por <i>Cacao swollen shoot virus</i> (CSSV) en cacao. a. Coloración rojiza de venas en hojas jóvenes; b. Defoliación y abandono del cultivo; c. Hinchazón de brotes	236
Figura 196	Vista general de un cultivo de caña de azúcar de la variedad SP71-6163 susceptible al <i>Sugarcane yellow leaf virus</i> (SCYLV). Las plantas tienen síntomas severos de amarillamientos y necrosis, en comparación con materiales tolerantes asintomáticos	240
Figura 197	Microscopía electrónica de transmisión de cortes de hoja de caña de azúcar infectadas por <i>Sugarcane mosaic virus</i> (SCMV). Muestra inclusiones citoplasmáticas tipo ruedas de carreta (CT-pinwheels), agregados laminares (AL-laminate aggregates) y pergaminos (s-Scrolls)	241
Figura 198	a. Plantas de caña de azúcar que muestran síntomas típicos de mosaico (rayados cloróticos); b. necrosis en hojas de una planta indicadora de sorgo (<i>Sorghum bicolor</i> 'TX2786') inoculada con <i>Sugarcane mosaic virus</i> (SCMV)	241
Figura 199	Microscopía electrónica de transmisión que muestra partículas isométricas de 30 nm de <i>Sugarcane yellow leaf virus</i> (SCYLV)	242
Figura 200	Síntomas inducidos por <i>Sugarcane yellow leaf virus</i> (SCYLV) en hojas de caña de azúcar. a. Amarillamiento en nervadura principal en el envés; b. Coloración rojiza en la nervadura principal en el haz. Se pueden observar, además, puntos y estrías blancas a lo largo de las hojas	243
Figura 201	a. Síntomas de agallas sobre el envés de hojas; b. Síntomas de enanismo severo de plantas de caña de azúcar afectadas por <i>Fiji disease virus</i> (FDV)	244
Figura 202	Insectos adultos de <i>Perkinsiella saccharicida</i> , vector del <i>Fiji disease virus</i> (FDV)	245
Figura 203	Síntomas inducidos por nueve virus que afectan plantas de arroz en Asia	247
Figura 204	a. Síntomas de producción de raíces aéreas; b. Agallas cerosas en las cañas; c. Enanismo severo de plantas de arroz infectadas por el <i>Southern rice black streaked dwarf virus</i> (SRBSDV)	248
Figura 205	Síntomas de tungro del arroz causados por <i>Rice tungro bacilliform virus</i> (RTBV) y <i>Rice tungro spherical virus</i> (RTSV). a. Enanismo de plantas; b. Decoloración completa y parcial de láminas foliares, acompañadas de enrollamiento foliar	249
Figura 206	Ninfas y adultos de <i>Nephotettix</i> sp., los insectos vectores de <i>Rice tungro bacilliform virus</i> (RTBV) y <i>Rice tungro spherical virus</i> (RTSV) en arroz	250
Figura 207	Síntomas de hoja blanca del arroz causados por <i>Rice hoja blanca virus</i> (RHBV)	251
Figura 208	Adultos y ninfas de <i>Tagosodes orizicolus</i> , el vector del <i>Rice hoja blanca virus</i> (RHBV)	251
Figura 209	Síntomas de amarillamiento de láminas foliares y focos de plantas sintomáticas en un campo de arroz causados por el <i>Rice yellow mottle virus</i> (RYMV)	253
Figura 210	Síntomas causados por diferentes virus en plantas leguminosas. a. Mosaicos y ampollas en hojas causadas por <i>Cucumber mosaic virus</i> (CMV) en frijol pinto; b. Moteados en planta de maní causado por <i>Peanut mottle virus</i> (PEMOV); c. Mosaico y aclaramiento	256

de venas causadas por *Southern bean mosaic virus* (SBMV); d. Amarillamiento, mosaico y enanismo severo causado por *Bean golden yellow mosaic virus* (BGMV); e. Mosaico y verdeamiento de venas principales causado por *Bean common mosaic virus* (BCMV)

Figura 211	Diferentes síntomas inducidos por <i>Bean common mosaic virus</i> (BCMV) en plantas de frijol. a. Verdeamiento de venas y clorosis general; b. Ampollamiento y mosaico general en hojas; c. Verdeamiento de nervadura central	257
Figura 212	Síntomas de amarillamiento intenso con deformación de tejidos en plantas de frijol susceptibles al <i>Bean golden mosaic virus</i> (BGMV)	259
Figura 213	Plantas de frijol con fuerte infestación de moscas blancas transmisoras de <i>Bean golden mosaic virus</i> (BGMV)	259
Figura 214	Síntomas causados por <i>Spongospora subterranea</i> , el vector del <i>Potato mop-top virus</i> (PMTV). a. Tubérculos con sarna pulverulenta; b. Raíces de plantas de papa con múltiples agallas	263
Figura 215	Síntomas de moteados y clorosis de plantas de papa infectadas por <i>Potato mop-top virus</i> (PMTV)	263
Figura 216	Síntomas causados por <i>Potato virus Y</i> (PVY) en plantas de papa. a. Mosaico rugoso; b. Necrosis de nervaduras	264
Figura 217	Anillos necróticos en tubérculos de papa causados por la variante NTN de <i>Potato virus Y</i> (PVY-NTN)	264
Figura 218	Síntomas de mosaicos causados por <i>Potato virus X</i> en plantas de papa	266
Figura 219	Síntomas de enrollamiento foliar causados por <i>Potato leafroll virus</i> (PLRV) en plantas de papa	267
{ 26 } Figura 220	Síntomas causado por <i>Potato yellow vein virus</i> (PVV) en papa. a. Amarillamiento de venas; b. Amarillamiento generalizado del tejido foliar de plantas en estado avanzado de la enfermedad	268
Figura 221	Síntomas de <i>Cassava mosaic disease</i> causados por un complejo de begomovirus en yuca. a. Mosaico y deformación de hojas; b. Mosaico severo y reducción en el desarrollo de plantas	273
Figura 222	Infestación severa de moscas blancas en plantas de yuca con síntomas iniciales de <i>Cassava mosaic disease</i>	273
Figura 223	Síntomas foliares de <i>Cassava brown streak disease</i> (CBSD) causada por dos ipomovirus. a. Los síntomas de clorosis y amarillamiento de venas por lo general ocurren en hojas viejas, mientras los brotes aparecen asintomáticos; b. Detalle de amarillamiento de venas secundarias y de pequeñas manchas cloróticas en la lámina foliar	274
Figura 224	Síntomas en tallos y raíces de <i>Cassava brown streak disease</i> (CBSD) causada por dos ipomovirus. a. Estriados y lesiones marrones en corteza de tallos; b. Deformación de raíces tuberosas; c-d. Lesiones necróticas en pulpa de raíces tuberosas	275
Figura 225	Síntomas causados por <i>Banana bunchy top virus</i> (BBTV) en plantas de banano. a. Estriados de color verde oscuro sobre pecíolos de hojas infectadas (señalados) y ondulaciones en lámina foliar y bordes de hojas; b. Plantas con bajo desarrollo y síntomas de cogollo racimoso	278
Figura 226	Colonias del áfido negro del banano <i>Pentalonia nigronervosa</i> en la corona del pseudotallo de una planta utilizada para experimentación con el <i>Banana bunchy top virus</i> (BBTV)	279

Figura 227	Síntomas de <i>Banana streak disease</i> (BSD) causados por un complejo de badnavirus en musáceas. a. Rayado clorótico en hojas; b. grabados cloróticos y necrosis en pseudotallo; c. Puntos necróticos y disminución en la calidad de los frutos de banano por deformación y bajo peso	280
Figura 228	Infestación del pseudotallo de banano por cochinillas harinosas transmisoras del complejo de <i>Banana streak viruses</i>	281
Figura 229	Síntomas de mosaico severo con deformación de hojas de papaya infectadas con <i>Papaya ringspot virus</i> (PRSV)	285
Figura 230	a. Síntomas de manchas anulares en frutos en papaya hawaiana; b. Síntomas de manchas anulares en frutos en papaya mexicana	285
Figura 231	a. Síntomas de clorosis y decaimiento general de un árbol cítrico; b. Acanaladuras en tallo de lima Tahití causados <i>Citrus tristeza virus</i> (CTV)	289
Figura 232	Síntomas de psorosis causada por <i>Citrus psorosis virus</i> (CPsV) en plantas de tangelo minneola	290
Figura 233	Síntomas causados por <i>Citrus leprosis virus c</i> (CiLV-C) y <i>Citrus leprosis virus N</i> (CiLV-N) en cítricos. a. Manchas con centros necróticos causados por CiLV-N en hojas de naranja dulce; b. Manchas circulares cloróticas con centros verdes causadas por CiLV-C en naranja Valencia; c-d. Manchas cloróticas y corchosas sobre ramas de naranja dulce	292
Figura 234	Síntomas de manchas necróticas causados por <i>Citrus leprosis virus c</i> (CiLV-C) y <i>Citrus leprosis virus N</i> (CiLV-N) en frutos de naranja Valencia y naranja pera	292
Figura 235	Microscopía electrónica de barrido de <i>Brevipalpus phoenicis</i> , el vector de <i>Citrus leprosis virus c</i> (CiLV-C). a. Larva; b. Adulto	293



Lista de tablas

Tabla 1	Pérdidas estimadas por causa de enfermedades en cultivos de importancia agrícola mundial	35
Tabla 2	Evolución de la taxonomía de virus, según los reportes del Comité Internacional de Taxonomía de virus (ICTV)	57
Tabla 3	Matriz de identidad basada en secuencias del gen de la cápside viral de cuatro especies de potyvirus procedentes de plantas de solanáceas de diferentes lugares del mundo	60
Tabla 4	Taxonomía de virus y viroides de plantas aprobada por el IX Reporte del ICTV. Figuran también algunas de las características estructurales de cada grupo viral	61
Tabla 5	Participación porcentual con base en el tipo de genoma de virus que infectan diferentes grupos de seres vivos, incluso plantas	76
Tabla 6	Principales vectores y modos de transmisión de miembros de diferentes géneros de virus de plantas	112
Tabla 7	Transmisión de virus por semilla sexual en diferentes géneros virales y rangos de eficiencia de transmisión	116
Tabla 8	Características del genoma y estrategias de expresión de genes utilizadas en algunos géneros de virus de plantas con genomas de +ssRNA	128
Tabla 9	Tipos de susceptibilidad a <i>Tobacco mosaic virus</i> (TMV) y <i>Tobacco etch virus</i> (TEV) en 310 plantas evaluadas por Holmes en 1946	143
Tabla 10	Genes dominantes y recesivos de plantas que han sido clonados y que confieren resistencia a virus	144
Tabla 11	Algunos mecanismos y proteínas responsables de rutas supresoras de silenciamiento de RNA (VSR) en virus de plantas	148



Presentación

En este libro se realiza un recorrido por los aspectos más relevantes de la virología de plantas, con énfasis en aquellos de mayor trascendencia para las regiones tropicales y subtropicales. El contenido está organizado en cuatro secciones: (i) Generalidades de los virus, (ii) Ciclo infectivo, relaciones con hospedantes y vectores, (iii) Características de algunos de los principales grupos taxonómicos de virus y (iv) Descripción y manejo de enfermedades virales. Al final, se presentan una selección del cuerpo bibliográfico consultado –que servirá de soporte a quienes estén interesados en profundizar en algunos de los temas tratados– y un apéndice que ilustra los principales procedimientos serológicos y moleculares utilizados para la detección e identificación de virus.

El texto sigue parcialmente las recomendaciones sobre nomenclatura formal y uso de los nombres comunes de virus descritos en los estatutos del Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV); en consecuencia, aspectos como las diferencias en el uso de letras itálicas y mayúsculas en los nombres de especies y de taxa virales (capítulo iii) se derivan de dicha normatividad; aunque no siempre se diferencia en la escritura el concepto abstracto de especie y el de ente viral, pues para nuestro concepto su diferenciación afecta la claridad del texto.

Con el fin de ofrecer mayor claridad a los lectores, siempre se presenta el nombre completo de cada especie de virus cuando se menciona por primera vez y luego se utilizan las siglas reconocidas por el ICTV. Sin embargo, cuando el contexto lo amerita, el nombre de la especie viral puede ser escrito nuevamente de forma completa. Las técnicas, instituciones, medidas y otras denominaciones son citadas por primera vez en extenso y luego se expresan en su forma abreviada.

Dada la adopción del inglés en la literatura científica mundial, se describen los nombres de técnicas, procedimientos, procesos biológicos e incluso enfermedades virales en este idioma; solo se usa la traducción al español cuando se considera pertinente en el contexto de cada párrafo. Somos conscientes de que los anglicismos no son apropiados desde el punto de vista lingüístico, pero en las ciencias naturales, y en especial en la virología que utiliza el inglés como idioma base de su nomenclatura, su uso resulta de gran practicidad. De acuerdo con la condición de texto básico y con el fin de facilitar la lectura, no se citan las referencias bibliográficas directamente en cada párrafo, pero sí se presentan las más representativas para cada temática en la sección de bibliografía seleccionada.

Son muchas las personas e instituciones que merecen ser reconocidas por su aporte directo o indirecto para la realización de este texto. Comenzamos por nuestra alma mater, la Universidad Nacional de Colombia, que nos ha ofrecido las condiciones propicias en la Escuela de Biociencias adscrita a la Facultad de Ciencias de la sede Medellín, para desarrollar nuestra labor docente e investigativa; además, agradecemos al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia (MADR), que financió directamente algunas de nuestras investigaciones en virus de plantas solanáceas y aportó en conjunto con Corpoica los recursos para la publicación de este libro.

Especial gratitud debemos a los colegas y estudiantes adscritos a los grupos de investigación de Biotecnología Vegetal y Biotecnología Microbiana por brindarnos el entorno científico adecuado para adelantar nuestros

trabajos en virología vegetal y microbiología molecular. El capítulo XXI fue escrito en conjunto con el doctor José Fernando Gil, a quien reconocemos su aporte en el estudio de los virus del cultivo de papa. También es necesario indicar que algunas de las fotografías que ilustran el texto se derivan de las visitas de campo y del trabajo de laboratorio que en conjunto hemos desarrollado con decenas de estudiantes de pregrado y posgrado, a quienes debemos nuestra gratitud y estima.

De igual modo reconocemos el apoyo de Colciencias, de la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad Nacional de Colombia (VR), del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA, España), del International Foundation for Science (IFS, Suecia) y del Forestry and Agricultural Biotechnology Institute (FABI, Sudáfrica) por la financiación de varios de nuestros proyectos de investigación, al igual que la capacitación brindada en virología vegetal y de hongos.

Queremos agradecer a los cientos de autores que, con la publicación de sus investigaciones científicas básicas y aplicadas, han ofrecido los cimientos para la escritura de este libro. Es justo reconocer con especial énfasis la utilización como textos de consulta continua los diferentes reportes del Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV) y del *Desk Encyclopedia of Plant and Fungal Virology*, así como las diferentes ediciones de *Matthew's Plant Virology* (Hull 2004; 2014) y las páginas webs *ViralZone* (<http://viralzone.expasy.org/>), *ICTV* (<http://www.ictvonline.org/>) y *Description of Plant Viruses* (<http://www.dpvweb.net/>).

Todos los diagramas que se presentan en el libro fueron realizados directamente por los autores, aunque por supuesto algunos de ellos se basaron en fuentes bibliográficas o de páginas de virología disponibles en internet, por lo que se cita la fuente principal para estos.

{ 32 }

Para terminar, deseamos hacer un reconocimiento muy especial y lleno de gratitud a los siguientes investigadores y sus instituciones, que ofrecieron su colaboración desinteresada a este proyecto editorial, a través del envío y permiso de publicación de diferentes fotografías de partículas virales, síntomas de enfermedades y vectores biológicos para ilustrar los capítulos de este libro con casos de relevancia mundial. A todos queremos además expresarles que su aporte exalta los valores solo científicos sino humanistas de la solidaridad, el bien común y la construcción de comunidad científica.

Línea de Virología Vegetal de los grupos Biotecnología Vegetal y Biotecnología Microbiana de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Colombia: José Fernando Gil PhD, MSc. Mariluz Ayala, (c) PhD John Álvarez, MSc. Margarita Jaramillo, MSc. Verónica Rodríguez, (c) PhD Yuliana Gallo, MSc. Nevar García, MSc. Inés Osorio, Biol. (c) PhD Derly Andrade, MSc. Sara Bastos, MSc. Mary Carmen Ortiz, MSc. Emanuela Henao, MSc. Helena Jaramillo Mesa, MSc. Daniel Muñoz Escudero, MSc. Laura Muñoz Baena, Ing. Juan Esteban Martínez.

Colaboradores externos (presentados en orden alfabético por su primer apellido):

Sr. Alex Abaca. National Cassava Program, National Crops Resources Research Institute (NACRRI), Namulonge, Uganda

Dra. Paula Agudelo. University of Clemson, School of Agricultural, Forest, and Environmental Sciences, EE. UU

Dr. Jairo Castaño Zapata. Universidad de Caldas, Colombia

Ing. Carlos Chuquillanqui. Centro Internacional de la Papa (CIP), Perú

Dr. Christian Cilas. CIRAD, Francia

Dr. Barry Croft. Sugar Research Australia, Queensland, Australia

Dr. Chen Fadi. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, China

Dr. Ricardo Flores. Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (UPV-CSIC), Universidad Politécnica de Valencia, España

MSc. Heidy Gamarra. Centro Internacional de la Papa (CIP), Perú

Dr. José Fernando Gil. Department of Agroecology, Aarhus University, Dinamarca

Dr. Marcos C. Gonçalves. Laboratório de Fitovirologia, Centro P&D Sanidade Vegetal, Instituto Biológico, Brasil.

Dr. Juan Gonzalo Morales. Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín

MSc. Margarita Jaramillo. Instituto de Desarrollo e Innovación Tecnológica para la Competitividad Territorial, Universidad San Pablo Tucumán, Argentina

Dr. Clesson Higashi. Department of Plant and Environmental Protection Sciences, University of Hawaii at Manoa, EE. UU

Dr. Shoshi Kikuchi. Plant Genome Research Unit, National Institute of Agrobiological Sciences (NIAS), Japón

Dr. Satendra Kumar Mangrauthia. Directorate of Rice Research, Rajendranagar, India

Dr. Steen Lykke Nielsen. Department of Agroecology, Aarhus University, Dinamarca

Dr. Gerardo Martínez (Q.E.P.D.). Programa de Plagas y Enfermedades, Cenipalma, Colombia

Dr. Francisco Morales. Investigador emérito, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Colombia

Sra. Lyna Mukwa. Clinique des Plantes e Kinshasa, República Democrática del Congo

Dr. Francis Nkaa. University of Agriculture, Umudike, Abia State, Nigeria

Dra. Claudia Nome. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA, Argentina

Dr. Javier Orduz Rodríguez. Corpoica, CI La Libertad, Colombia

Dr. Óscar Ortega. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín

Dr. Guillermo Ramírez. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín

Dr. Javier Romero y colaboradores. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Madrid, España

Dra. Dionne Shepherd. University of Cape Town, Sudáfrica

Dra. Lucy R. Stewart. Research Molecular Biologist, USDA-ARS, OSU, Wooster, Ohio, EE. UU

Dr. Jorge Tenorio. Centro Internacional de la Papa (CIP), Perú

Dr. Oumar Traore. Institut de l'environnement et de recherches agricoles (INERA), Burkina Faso

Dra. Graciela Truol. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), IPAVE, CIAP, Argentina

Dra. Francia Varón. Fitopatóloga, Colombia

Sr. Heberth Velásquez. Corpoica, CI La Libertad, Colombia

Dra. Paulina Germania Villena Ochoa. Universidad de Cuenca, Ecuador

Dr. Elliot Watanabe Kitajima. Universidade de São Paulo (USP). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), (IOC/V), Brasil

Dr. Guohui Zhou. South China Agricultural University, China

{ 33 }

Resta mencionar que los posibles errores que se encuentren en el libro son responsabilidad exclusiva de los autores; dichos errores son, por supuesto, involuntarios y seguramente con el apoyo de los lectores serán corregidos en futuras ediciones.



Introducción

Entre los principales limitantes de la producción agrícola en las regiones tropicales y subtropicales del mundo están las enfermedades de origen biótico ocasionadas fundamentalmente por hongos, oomycetes, bacterias, nematodos, virus y viroides. Es frecuente, además, la concurrencia de complejos de fitopatógenos que causan síndromes devastadores en agroecosistemas de diferentes regiones.

Los factores que desencadenan situaciones epidémicas o pandémicas en los cultivos no siempre son fáciles de identificar, ya que el desarrollo de las enfermedades en las plantas depende de una compleja interacción espaciotemporal entre los agentes causales, los hospedantes, las condiciones ambientales que rigen dicha interacción y las prácticas de manejo que utilizan los agricultores. Sin embargo, existe un consenso en el sentido de que en las regiones tropicales, y en algunas subtropicales, se presentan condiciones climáticas, edafológicas, ecológicas y socioculturales que favorecen el desarrollo y dispersión de los fitopatógenos, lo que explica que sean justamente en estas zonas donde se reportan las mayores pérdidas agrícolas del mundo por efecto de las enfermedades de origen biótico (tabla 1).

Tabla 1. Pérdidas estimadas por causa de enfermedades en cultivos de importancia agrícola mundial*

Región**	Pérdidas estimadas (Miles de millones de dólares)	Porcentaje de reducción de rendimientos potenciales
Norteamérica	7,1	9,7%
Europa occidental	5,8	9,8%
Europa oriental	8,2	15,2%
Sur y Centroamérica	7,1	13,5%
Asia	43,8	14,2%
África	4,1	15,7%

Pérdidas estimadas para cultivos de arroz, trigo papa y maíz

Arroz	33	15,1%
Trigo	14	13,6%
Papa	9,8	16,4%
Maíz	7,8	10,9%

*Arroz, trigo, cebada, maíz, papa, soya, algodón y café

** Las regiones sombreadas corresponden fundamentalmente a zonas tropicales y subtropicales

Fuente: Oerke et al. 1994

A lo anterior se suman los bajos niveles de educación en la zona rural, la limitación en servicios de extensión y de asistencia técnica, y el exíguo volumen de investigación científica que se origina en el trópico, lo que, en conjunto, trae consecuencias como la implementación generalizada de prácticas fitosanitarias inapropiadas como la siembra de materiales no certificados y altamente susceptibles a patógenos; el cultivo continuo o escalonado de una misma especie; las deficiencias en el manejo de vectores, el uso inadecuado de residuos de cosecha y el exceso en la aplicación de productos químicos.

Las prácticas citadas, además de resultar ineficientes para el manejo de las enfermedades, por lo general conducen a la selección de microorganismos e insectos resistentes a moléculas químicas, a la contaminación de suelos, fuentes de agua y de los propios alimentos, y al deterioro de las condiciones ambientales y de la biodiversidad de los agroecosistemas, lo que hoy en día es una gran preocupación mundial.

{ 36 } Los problemas descritos se agravan en el caso de las enfermedades de origen viral, ya que los virus son transmitidos usualmente por insectos vectores que pueden alcanzar altas densidades poblacionales en condiciones tropicales, dada la presencia de material vegetal, vivo y en descomposición, durante todo el año. Al tiempo, los sistemas de propagación

asexual que predominan en diferentes cultivos del trópico (como yuca, caña de azúcar, frutales, papa, entre otros), así como las deficiencias en los procesos de certificación fitosanitaria, facilitan la dispersión masiva de los virus dentro y entre regiones (figura 1).

Se estima que cerca de un 20% del total de las enfermedades en plantas son de origen viral y se atribuye a tales procesos infectivos la pérdida de varios miles de millones de dólares por año para la agricultura mundial. Casos como el de la tristeza de los cítricos y la hinchazón de los brotes del cacao (*cocoa swollen shoot*) son ejemplos que explican la necesidad de profundizar en el estudio de la virología vegetal, pues durante el siglo xx y en lo corrido del xxi se han generado mermas mundiales equivalentes a al deterioro o la muerte de cerca de 60 y 250 millones de árboles de cítricos y cacao, respectivamente (figura 2).

Por otra parte, los virus han sido utilizados como modelos de estudio en diferentes disciplinas biológicas, especialmente en aspectos moleculares (por ejemplo, estructura, función e interacción de los ácidos nucleicos y proteínas), y para su investigación se ha diseñado un gran número de técnicas e instrumentos, de utilidad en la microbiología, y en diferentes ramas de las ciencias naturales, médicas, agrícolas y veterinarias.



FOTOS: autores

Figura 1. Dos aspectos fundamentales que explican las altas tasas de dispersión de virus en las regiones tropicales y subtropicales. a. La propagación asexual (como ejemplo: tubérculo con brotes de papa) de diferentes cultivos con esquemas deficientes de certificación de semilla; b. Las altas poblaciones de insectos vectores (como ejemplo: hoja de tamarillo con alta infestación de áfidos).

FOTOS: (a) Javier Orduz y (b) Christian Cillas



Figura 2. a. Deterioro de plantas de cítricos; b. Muerte de plantas de cacao, afectadas por *Citrus tristeza virus* (CTV) y *Cacao swollen shoot virus* (CSSV), respectivamente.

A pesar del impacto de las enfermedades virales en las regiones tropicales y subtropicales, la información disponible sobre aspectos básicos de la biología de sus agentes causales y sobre estudios aplicados a la generación de estrategias de manejo es escasa en comparación con lo reportado para la región templada. Importantes excepciones son las investigaciones en virología vegetal adelantadas en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT, Colombia), Centro Internacional de la Papa (CIP, Perú), International Institute of Tropical Agriculture (IITA, Nigeria) e International Rice Research Institute (IRRI, Filipinas). En consecuencia, es imperativo continuar y establecer programas de virología vegetal para los diferentes cultivos que predominan en los trópicos, para lo cual se requiere inversión en la preparación técnica y científica de profesionales en áreas agrarias y biológicas; establecimiento de programas de mejoramiento genético por resistencia a virus y otras características de interés agronómico; el fortalecimiento de los sistemas de vigilancia cuarentenaria en los países, y desarrollo de sistemas de detección asintomática de las variantes virales predominantes en cada región geográfica.

La carencia evidente de información sobre estos aspectos en nuestros países justifica continuar con la generación de nuevo conocimiento aplicado que conduzca al mejoramiento de la situación fitosanitaria de los cultivos tropicales y subtropicales. Por ello, esperamos que el presente texto sea un estímulo

para que nuestros jóvenes talentos en universidades y colegios técnicos de agricultura y biología se sientan atraídos por esta virología vegetal.

El volumen de desafíos por resolver sobre el conocimiento, efecto y manejo de los problemas virales seguramente garantizará a los nuevos profesionales su ocupación laboral y un continuo reto para sus vidas académicas. Así mismo, la enorme cantidad de aplicaciones bioinformáticas, moleculares, agroecológicas y estadísticas les proporcionarán un entorno de gran dinamismo y actualidad tecnológica, acorde con los niveles de desarrollo del siglo XXI.

Definición de las regiones tropicales y subtropicales

En este libro se entiende por región tropical aquella franja geográfica comprendida entre los trópicos de Cáncer y Capricornio; es decir, la zona que se extiende desde la línea ecuatorial hasta los 23°27' Norte y Sur (figura 3). Esta región ocupa cerca del 20% de la tierra emergida del planeta y, dadas sus condiciones favorables para la agricultura durante la mayor parte del año, representa el 40% del total de las zonas arables en el mundo, razón por la que allí se ha establecido alrededor del 42% de la población del planeta.

Los climas de la zona tropical son isotermos, es decir, presentan escasas variaciones de temperatura a

lo largo del año (de 2 a 5 °C), aunque las diferencias térmicas diarias pueden llegar a ser de 10 a 15 °C.

Según la clasificación de Köppen, el clima tropical se define como no árido y caracterizado por temperaturas medias anuales superiores a los 18 °C. La humedad relativa del aire es muy elevada y alcanza generalmente niveles superiores al 80%. La zona tropical es el lugar de convergencia de los vientos alisios de ambos hemisferios, que con frecuencia vienen cargados de humedad, cuyo encuentro produce un movimiento ascendente que, al enfriarse, provoca las lluvias de frente. Las precipitaciones en los trópicos oscilan entre los 400 y los 1.000 mm anuales, aunque en algunas regiones pueden ser muy superiores.

La región subtropical está ubicada al norte y sur de los trópicos, entre los 23°27' y los 35° N y S (figura 3). Usualmente presenta veranos de cálidos a muy cálidos, e inviernos en los que la temperatura con frecuencia no es inferior a 0 °C. Entre los territorios que la región incluye se encuentran Florida y parte de California (EE.UU.), el norte de India, el sudeste chino, el sur de Europa y el norte de África, las zonas costeras de Sudáfrica y buena parte de Australia, Argentina y del sur de Brasil.

El clima subtropical se clasifica como templado cálido, gracias a que su temperatura media anual no es inferior a 18 °C, y la temperatura media del mes más frío del año oscila entre 6 y 18 °C. Los patrones de pluviosidad varían ampliamente en la región, al incluir zonas desérticas, sabanas, bosques húmedos y climas mediterráneos. Así, en zonas como las sabanas se presentan condiciones semiáridas a semihúmedas con entre 250 y 1.270 mm de precipitación anual, mientras que en las zonas con climas mediterráneos dichos valores oscilan entre 275 y 900 mm anuales.

Se debe tener en cuenta que muchos países ubicados en las regiones tropicales o subtropicales presentan cadenas montañosas en las que es habitual el asentamiento de grandes poblaciones humanas y, consecuentemente, de diferentes agroecosistemas que soportan sus necesidades alimenticias, de fibras y maderas. Estas regiones se denominan en el texto *trópico alto* y se caracterizan por estar situadas a >1.000 msnm, presentar importantes niveles de precipitación (>750 mm), bajo brillo solar, suelos ricos en materia orgánica y temperaturas moderadas durante todo el año (<24 °C).

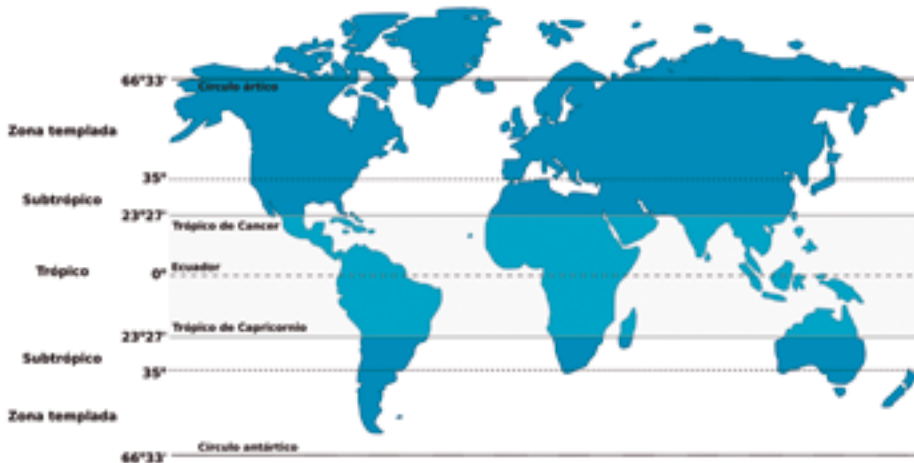


Figura 3. Ubicación de la regiones tropicales y subtropicales en el mundo. Algunas regiones que geográficamente se sitúan en la zona subtropical se consideran templadas debido a sus condiciones climáticas particulares.

Fuente: autores

Así mismo, denominamos *trópico bajo* a las zonas típicamente tropicales; es decir, aquellas ubicadas desde el nivel del mar hasta poco menos de 1.000 msnm, que presentan altas temperaturas ($>24^{\circ}\text{C}$) y saturación de humedad ($\sim 75\text{-}80\%$). Sin embargo, entendemos que esta clasificación es solo práctica, pues puede resultar imprecisa para algunos casos, al existir regiones con situaciones intermedias, con regularidad denominadas *trópico medio* o *templado*, al igual que condiciones especiales de deficiencias de precipitación o humedad (como climas secos a nivel del mar y altiplanos áridos, por mencionar algunos) (figura 4).

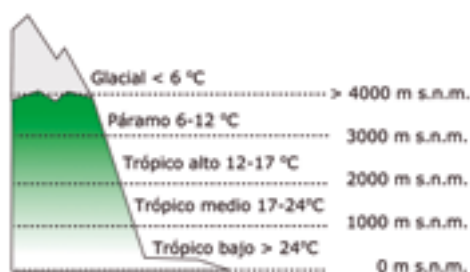


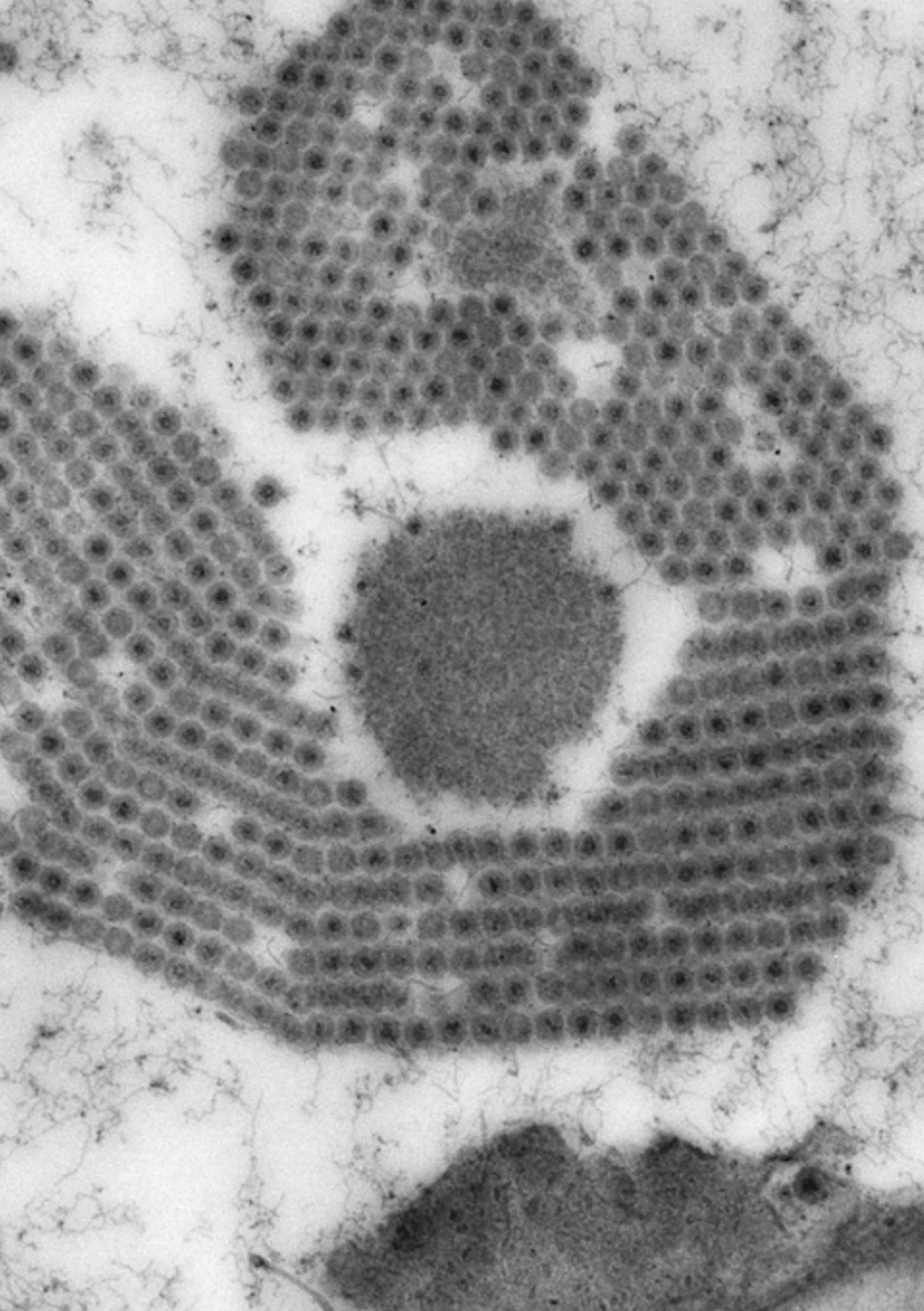
Figura 4. Distribución altitudinal de zonas geográficas en la región tropical.

Fuente: autores

Con el fin de orientar a los lectores sobre el tipo de agroecosistemas en los que se establece un cultivo en particular afectado por una enfermedad viral, por lo general utilizamos en conjunto la denominación citada de trópicos (alto, medio y bajo) con los dos sistemas principales de explotación agrícola, monocultivos y cultivos tradicionales, para referirnos a la siembra de grandes extensiones de una misma especie vegetal (intensiva o industrial), o a la siembra de pequeñas parcelas (campesina o tradicional), diversificadas en tiempo o espacio, respectivamente (figura 5).

Figura 5. Diferentes sistemas de cultivo en las regiones tropicales y subtropicales. a. Rotación de cultivos papa-pastos; b. Monocultivo de tamarillo o tomate de árbol en el trópico alto de Suramérica; c. Monocultivo de trigo en la región subtropical de Argentina; d. Cultivo mixto de banano y batata (camote) en el trópico bajo de la República Democrática del Congo.





Generalidades de los virus

En esta parte realizamos una introducción a los virus como entes infecciosos en diferentes hospedantes (vegetales, animales etc.). Repasamos la historia que nos ha conducido al conocimiento que en la actualidad poseemos sobre su biología e interacciones con organismos procariotas y eucariotas, para luego profundizar en los principales grupos taxonómicos establecidos por el ICTV y en la estructura de los virus con énfasis en las características de sus genomas. Finalmente establecemos una aproximación a la importancia económica que representan los virus en diferentes cultivos en el mundo, enfocándonos en tres de ellos —papa, batata y ornamentales—, dada su importancia como base alimenticia en regiones tropicales de América y África, o de divisas para países como Colombia y Ecuador.

Capítulo I

La noción de virus

Las claras diferencias estructurales y funcionales que presentan los virus con respecto a otros patógenos como las bacterias, hongos o protozoos han conducido a un profundo debate académico sobre sus orígenes, estrategias biológicas e, incluso, sobre su naturaleza como seres vivos. En este capítulo daremos una mirada a estos aspectos y presentamos al final una definición pragmática de los virus, ajustada al conocimiento que poseemos de sus ciclos infectivos.

¿Son los virus seres vivos?

En los casi 115 años de desarrollo científico de la virología, mucho se ha avanzado sobre el nivel de conocimiento que se tiene acerca de dichos entes infecciosos. Fueron catalogados inicialmente como *veneno* (significado de virus en latín), toxinas de origen microbiano o, incluso, bacterias diminutas que pasaban a través del filtro de Chamberland. Aún hoy, la comunidad científica no se ha puesto de acuerdo sobre si los virus son organismos vivos y, como tal, deberían considerarse como otro grupo de microorganismos.

En este debate existen diversos puntos de vista sobre las características mínimas que definen a un ser vivo. Algunos consideran que, a pesar de que los virus dependen de células para su replicación, poseen un material genético similar al de los demás organismos y su carácter de patógenos obligados no los diferencia de otros microorganismos también obligados intracelulares como las clamidias y los fitoplasmas. En este sentido Luria, Darnell, Baltimore y Campell —grupo de notables virólogos— plantearon como base para la determinación de un organismo vivo la existencia de un linaje continuo con una historia evolutiva permanente. Desde esta perspectiva, la continuidad evolutiva es más importante que la independencia funcional y, por lo tanto, los virus se pueden considerar agentes infecciosos vivos.

Otro enfoque plantea que los virus son seres vivos en el contexto de su célula hospedante, pero por fuera de ella son un complejo molecular metabólicamente inactivo, ya que en el ambiente extracelular no pueden cumplir con funciones propias de la vida como la replicación de su material genético o la síntesis de sus proteínas.

Poco se sabe sobre el origen de los virus, sin embargo, el hecho de que infecten a todas las clases de organismos conduce a pensar que ellos han existido desde el origen mismo de las células. De ahí el comentario de la doctora Teri Shors en su libro *Understanding viruses*: Los virus están en todas partes, ¡donde exista vida, hay virus!

Todas las especies de plantas son o han sido hospedantes de virus a lo largo de su historia evolutiva. En consecuencia, por lo general, donde existan cultivos agrícolas tendremos enfermedades de origen viral. Esto es cierto aún para grupos de plantas que por tradición han sido consideradas libres de virus, como las palmas y los pinos, pues en ellas se ha detectado la presencia de potyvirus y tospovirus, respectivamente, aunque con un efecto fitopatológico menor. No es exagerado entonces afirmar que existe mayor diversidad biológica entre los virus que entre todos los integrantes de los reinos reconocidos de seres vivos. La capacidad que han alcanzado de parasitar todos estos hospedantes es una clara muestra de su éxito biológico como agentes infecciosos (figura 6).

Sobre el origen de los virus hay tres teorías principales: la retrogresiva, la celular y la coevolutiva.

La teoría retrogresiva plantea que los virus provienen de parásitos intracelulares que perdieron la mayor parte de los genes necesarios para la replicación, transcripción, traducción y mantenimiento metabólico al ser dichas funciones suplidas por el hospedante. Esta teoría sugiere que patógenos como las clamidias (agentes causales de la psitacosis humana y aviar) son un ejemplo del proceso por el que habrían pasado los virus, ya que estas bacterias todavía conservan características procarióticas como la fisión binaria y la presencia de DNA y RNA, pero dependen del metabolismo energético de su hospedante. Los defensores de esta teoría respaldan su viabilidad con los ejemplos de las mitocondrias y cloroplastos: dos organelas eucarióticas que presentan vestigios bacteriales (por ejemplos, DNA circular, ribosomas 70S).

La teoría de origen celular plantea que los virus surgieron a partir de ácidos nucleicos celulares (DNA o RNA), mediante procesos de recombinación genética que dieron inicio a su capacidad de sintetizar cápsides que facilitaron la permanencia por fuera de las células hospedantes. Lo anterior diferencia claramente a los virus de los cromosomas, ya que estos últimos no son viables por fuera de la célula. Para los partidarios de esta hipótesis, el origen de los virus ocurrió en múltiples eventos independientes, sobre diferentes tipos de células, por lo

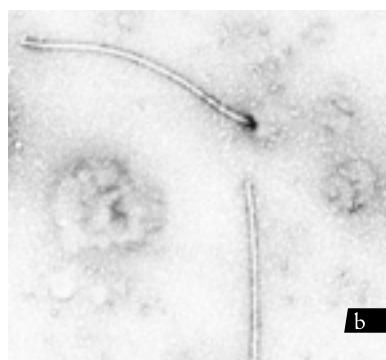
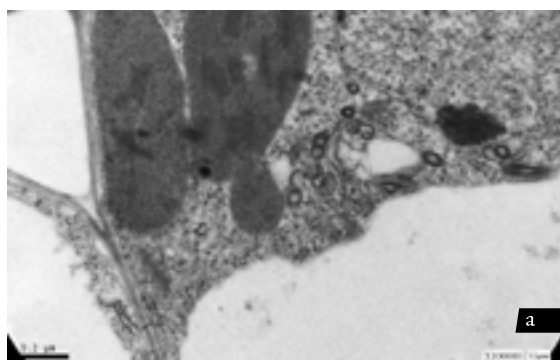


Figura 6. Microscopía electrónica de células infectadas con potyvirus. a. Inclusiones citoplasmáticas tipo ruedas de carreta (*pinwheels*); b. Partículas filamentosas flexuosas características de estos virus.

FOTOS: (a) Jorge Tenorio y (b) Francisco Morales

cual no existiría un ancestro común para todos los virus, como sí ocurre para las formas vivas celulares. Sin embargo, para algunos grupos de virus, como los de RNA positivo (+ssRNA), se ha encontrado que a pesar de las grandes diferencias en sus genomas, el gen que codifica para la polimerasa de RNA (replicasa viral) presenta motivos altamente conservados, aún entre virus de plantas y animales, lo que sugiere la existencia de ancestros virales que se presentaron antes de que ocurriera la separación de los hospedantes.

Para terminar, la teoría coevolutiva propone que los virus y las células han evolucionado en conjunto, a partir de complejos de ácidos nucleicos, para constituir células unos y virus otros. Sin embargo, dicha teoría es difícil de comprobar experimentalmente, dado el gran nivel de diversidad existente entre organismos celulares y virus, así como la ausencia de fósiles de estos últimos.

Definición de virus

En principio recurriremos a la definición clásica propuesta por Luria y colaboradores (1978): “Los virus son entidades cuyos genomas son elementos de ácidos nucleicos que se replican dentro de células vivas usando la maquinaria sintética celular y dando origen a un grupo de componentes que protegen el genoma y permiten su transmisión a otras células”.

Desde el punto de vista biológico, la definición de los virus se podría lograr al establecer comparaciones con microorganismos y componentes celulares que comparten algunas características similares y a partir de allí determinar las diferencias primordiales. Otra opción sería precisar las principales características estructurales y funcionales de los virus, sin importar que algunas de ellas también sean válidas para otros grupos de agentes infecciosos.

Sobre el primer caso Roger Hull (2002) hizo una comparación de las características básicas entre los virus, y clamidias, fitoplasmas y rickettsias. Este

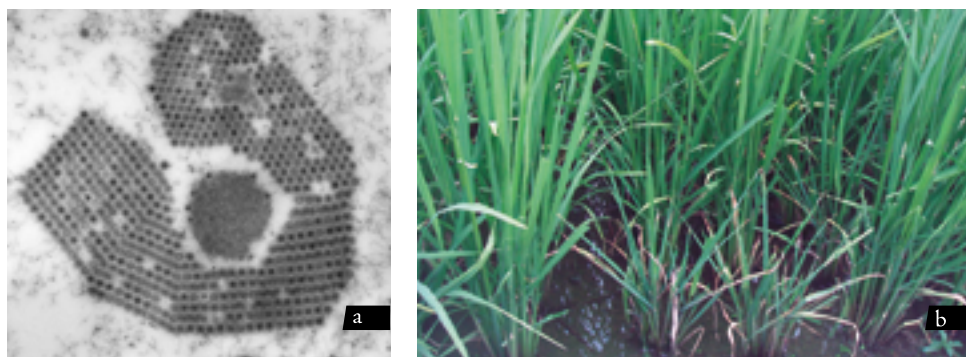
autor señaló que estas formas celulares simples se diferencian de los virus por: (a) la inexistencia de una membrana continua que separa el parásito del hospedante durante su replicación intracelular, (b) la ausencia de un sistema propio de síntesis de proteínas, y (c) por el proceso de generación de la progenie, que para el caso de los virus consiste en el ensamblaje de las nuevas partículas virales a partir de componentes preestablecidos, mientras que en los microorganismos aún más simples ocurre por el crecimiento de la célula madre, seguido de un proceso de fisión binaria.

Los virus se diferencian de elementos celulares como los plásmidos procarióticos por: (a) la presencia en los virus de cápside para la protección del material genético, (b) la ocurrencia de genes en los virus que no cumplen funciones para el beneficio de las células hospedantes, y (c) la naturaleza infecciosa del virus.

Según esos aspectos, un virus se puede definir como: *un conjunto de uno o más ácidos nucleicos —normalmente protegidos por una o varias cápsides formadas de proteínas o lipoproteínas y eventualmente por una envoltura externa obtenida de los sistemas membranosos de sus células hospedantes (frecuente en virus de animales)— que dependen de la maquinaria de síntesis de proteínas de sus hospedantes y son capaces de organizar su propia replicación solo dentro de células susceptibles. En este proceso se originan variantes a través de diferentes mecanismos mutacionales y de recombinación de los ácidos nucleicos virales; que dan origen a su progenie, a partir del ensamblaje de moléculas preestablecidas y que pueden ser transmitidos de modo horizontal o vertical entre hospedantes (figura 7).*

Con fines descriptivos, los virus se pueden caracterizar por los siguientes aspectos:

- Estructura no celular, pero sí integrada por el ensamblaje de componentes preformados que utilizan el metabolismo de la célula hospedante, con la dirección del genoma viral.



FOTOS: Guohui Zhou

Figura 7. a. Partículas virales isométricas de Southern rice black streaked dwarf virus (SRBSDV) (especie propuesta en el género *Fijivirus*) ensambladas en el citoplasma de células de plantas de arroz; b. Síntomas de enanismo severo (compárese el tamaño con respecto a las plantas asintomáticas aledañas) causados por SRBSDV en cultivos de arroz en inundación.

- Ausencia de un sistema propio de síntesis de proteínas.
- Ausencia de metabolismo energético propio, por lo cual su ciclo infectivo depende plenamente de la utilización del ATP generado por las células hospedantes.
- Carencia de una membrana propia que separa los sitios de replicación del virus de su célula hospedante.
- Presencia de un solo tipo de ácido nucleico como genoma (DNA o RNA), aunque algunos pueden generar diferentes intermediarios replicativos (por ejemplo, los retrovirus y pararetrovirus).

Como se puede apreciar, la definición biológica de los virus y de su origen no es una cuestión científica de pocas dimensiones. Nuestro punto de vista es que —independiente de considerarlos seres vivos o no— la realidad indica que son patógenos de plantas, animales, hongos, que causan con frecuencia enfermedades devastadoras y que, en muchas ocasiones, toman proporciones no solo epidémicas sino pandémicas, razón por la cual su estudio es prioritario para las disciplinas biomédicas, veterinarias y agronómicas.

Con fines prácticos, en este libro trataremos a los virus como agentes o entes infecciosos, con el objeto de evitar imprecisiones filosóficas y biológicas.

Además de los virus, se han encontrado otras formas infecciosas de estructura más simple como los viroides, satélites de RNA y los priones (figura 8).

Los viroides son moléculas de RNA de cadena circular (ssRNA) de entre 200 y 400 nt con estructura secundaria definida. Su genoma no codifica para ningún polipéptido, no tienen cápside ni envoltura externa que los proteja y solo se ha encontrado que causan enfermedades en plantas (por ejemplo, el viroide del tubérculo ahusado de la papa - PSTVd).

Los virus satélites, por su parte, son moléculas de RNA de 300 a 2000 nt, que dependen para su replicación de un virus principal (*helper virus*) y pueden o no codificar para su propia cápside. Se diferencian de los virus defectivos por el hecho de no presentar homología en secuencias con el genoma del virus principal; se pueden considerar hiperparásitos de sus virus hospedantes y modificar su proceso infectivo al hacerlos más o menos agresivos (híper o hipovirulentos).

Finalmente, los priones son moléculas proteicas infectivas y asociadas con enfermedades en animales y humanos que afectan el sistema nervioso, como Creutzfeldt-Jakob y la encefalopatía espongiforme de bovinos (BSE), mejor conocida como enfermedad de las vacas locas.

Los priones son codificados por genes endógenos (*Prnp*) y no son reconocidos por el sistema inmune

del hospedante; hasta el momento no ha sido reportado que afecten a las plantas.

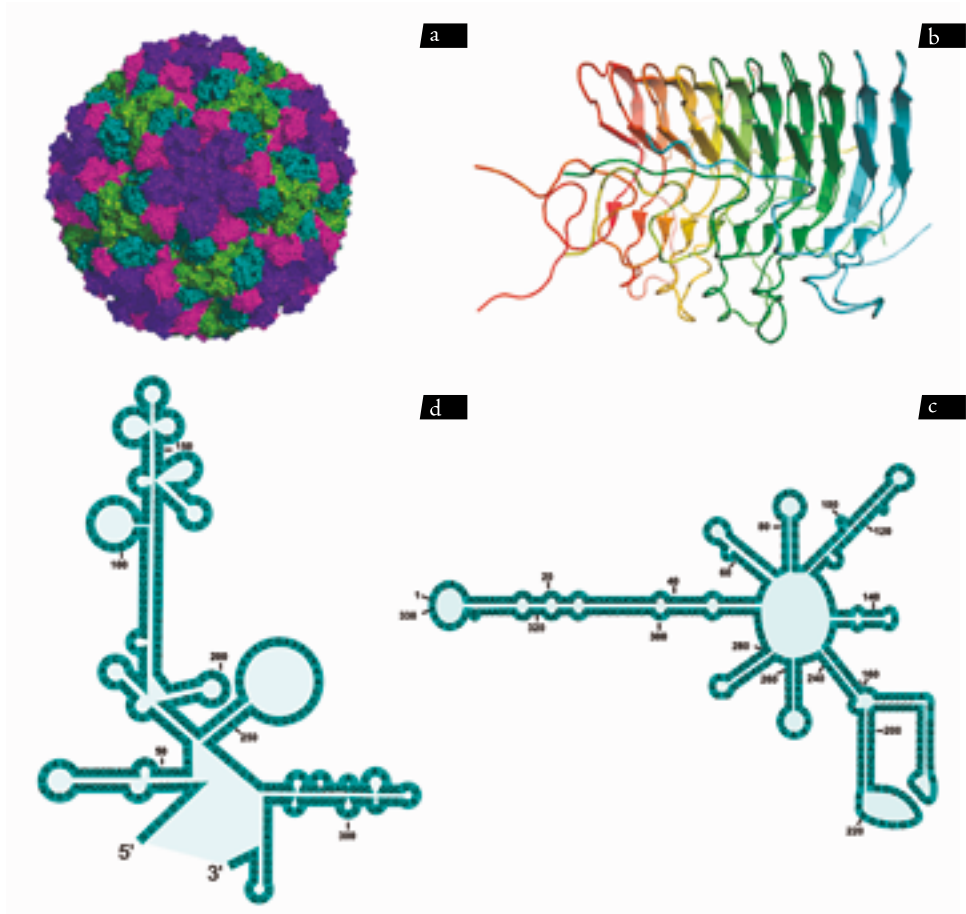


Figura 8. Virus y otros agentes infecciosos no celulares. a. Estructura de un virus isométrico con arreglo $\tau = 4$; b. Dominio amiloideo formador de prion de la proteína HET del hongo *Podospora anserina*; c. Viroide (*Peach latent mosaic viroid* - PLMV d); d. RNA satélite (satRNA) del *Cucumber mosaic virus* (CMV).

Fuente: autores



Historia de la virología

Las enfermedades virales se han manifestado en la humanidad desde tiempo ancestral, tal como lo demuestran los registros existentes sobre la presencia de poliomielitis y viruela (*Smallpox*) en Egipto, 3000 años a. C. En latín, la palabra *virus* significa veneno y en el contexto de la generación espontánea se utilizaba para representar cualquier entidad contagiosa que se desarrollara en individuos expuestos a condiciones adversas.

Se considera que la primera persona que utilizó científicamente la palabra virus fue Edward Jenner, un médico inglés que en el siglo XVIII denominó *Vaccine virus* al exudado de las pústulas de viruela del ganado (*Cowpox*). Jenner inoculó este material en personas para protegerlas del virus de la viruela humana, gracias a información que había conocido sobre el uso de esta práctica en Asia. Vale anotar que la palabra inglesa *pox* se refiere a una enfermedad caracterizada por pústulas o erupciones cutáneas, por lo general causada por los virus de la viruela (*Orthopoxvirus*) o por la bacteria de la sífilis (*Treponema pallidum*). Esta utilización dual es una clara manifestación del desconocimiento que se tenía de la naturaleza de los agentes causales de las enfermedades hasta el surgimiento de los trabajos clásicos de Louis Pasteur y Robert Koch durante la segunda mitad del siglo XIX, que condujeron a refutar la teoría de la generación espontánea.

R. Koch aportó las bases para establecer la etiología de las enfermedades infecciosas, a partir de la formulación de cuatro postulados:

- a. El patógeno en cuestión se debe encontrar en los hospedantes enfermos pero no en los sanos.
- b. El agente patógeno debe ser cultivado y estudiado en un medio axénico.
- c. La inoculación del agente sobre el mismo hospedante debe reproducir la sintomatología inicialmente observada.
- d. El patógeno debe ser reaislado y presentar las mismas características de aquel obtenido en el cultivo axénico.

Pasteur utilizó la palabra virus como un corpúsculo vivo contagioso (*Contagium vivum fixum*). Entre sus aportes principales a la virología se destacan los estudios sobre el virus de la rabia (*Rabies virus*), que condujeron a la obtención de vacunas efectivas al usar tejidos deshidratados del sistema nervioso de conejos infectados.

Otras enfermedades de humanos cuya naturaleza viral *sensu stricto* fue planteada de manera temprana son la fiebre amarilla (*Yellow fever virus*), expuesta por primera vez en 1881 por el médico cubano Carlos Finlay y confirmada por Walter Reed en 1901, y la poliomielitis (*Human poliovirus*), descrita por Karl Landsteiner y Erwin Popper en 1909. En animales, el primer agente viral asociado con una enfermedad fue la fiebre aftosa en vacunos (*Foot-and-mouth disease virus*), descubierta por Friedrich Loeffler en 1897.

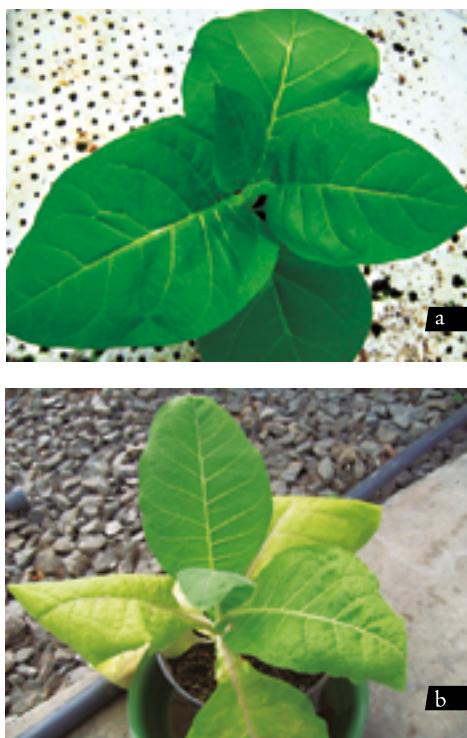
Para el caso de los virus de plantas, la ausencia de registros fósiles ha dificultado los estudios arqueológicos sobre sus efectos en poblaciones nativas vegetales y particularmente sobre los primeros cultivos agrícolas establecidos por el hombre en el período neolítico, entre 8500 y 8000 a. C. Sin embargo, no hay duda de que los virus han estado presentes en la tierra desde tiempos remotos. Los primeros reportes documentados que

confirman su ocurrencia en plantas se aproximan al año 1600 d. C., gracias a la propagación de tulipanes con variegaciones que daban origen a llamativas coloraciones en las flores y que dieron lugar a un fenómeno comercial especulativo llamado tulipomanía. Hoy sabemos que uno de los agentes causales de dicha enfermedad es el *Tulip breaking virus* (*Potyvirus*) y, por tanto, la comercialización actual de dichos materiales infectados con virus está restringida.

El primer virus vegetal estudiado científicamente fue *Tobacco mosaic virus* (TMV), caracterizado gracias a contribución de tres investigadores europeos: Adolf Mayer (Alemania), Dimitri Ivanovski (Rusia) y Martinus Beijerinck (Holanda). El primero publicó en 1886 una descripción de una enfermedad altamente contagiosa del tabaco en Holanda que denominó *mosaico*, por sus particulares patrones de coloración en las hojas afectadas, y cuya infectividad probó por transmisión de savia de plantas enfermas a sanas (figura 9). Mayer propuso como agente causal de esta enfermedad a una bacteria, que no pudo observar al microscopio ni cultivar en los medios axénicos utilizados en su época.

En el mismo año en Rusia, Dimitri Ivanovskij realizó un experimento en el que demostró que el agente causal de esta enfermedad podía pasar por el filtro de Chamberland, lo que dio nacimiento al nuevo concepto de patógenos filtrables. Chamberland fue un investigador del laboratorio de Pasteur, que desarrolló un instrumento para esterilizar soluciones por filtración sin necesidad de utilizar calor.

Martinus Beijerinck, en Holanda, continuó el trabajo de Mayer y en 1898 nombró este agente causal como un fluido vivo contagioso (*Contagium vivum fluidum*) y lo diferenció de los agentes contagiosos corpusculares. Beijerinck multiplicó el virus en hojas de tabaco y sugirió su movimiento por los haces del floema. Ya que para la época la palabra virus era usada indistintamente para bacterias, se acuñó el término *virus filtrable* para diferenciar este nuevo grupo de agentes infecciosos. Se considera que el trabajo de Beijerinck dio origen a la virología como disciplina científica en 1898.



FOTOS: (a) Steen Lykke Nielsen y (b) autores

Figura 9. a. Planta de tabaco sana; b. Planta inoculada mecánicamente con savia de plantas infectadas por una mezcla de virus. Es posible observar los síntomas de mosaico, aclaramiento de venas y clorosis foliar.

A partir de 1900, fueron muchos los agentes infecciosos filtrables descritos. En plantas, la atención se centró en los síntomas que ellos causaban, su rango de hospedantes y sus mecanismos de transmisión. Holmes, en 1929, descubrió que el TMV causaba reacciones hipersensibles en plantas de *Nicotiana glutinosa* luego de ser frotadas con savia de plantas enfermas y estimó que las lesiones locales generadas eran proporcionales a la concentración viral. Así nació el primer ensayo cuantitativo de virus de plantas.

Los estudios de estructura y composición de partículas virales comenzaron en 1935, cuando Wendell Stanley registró que el TMV podría ser purificado como cristales proteicos que permanecían infecciosos y que estarían conformados por proteínas del tipo globulinas. Un año después, Bawden et al. demostraron que el TMV consistía en una nucleoproteína cuyo ácido nucleico contenía un azúcar pentosa. Finalmente,

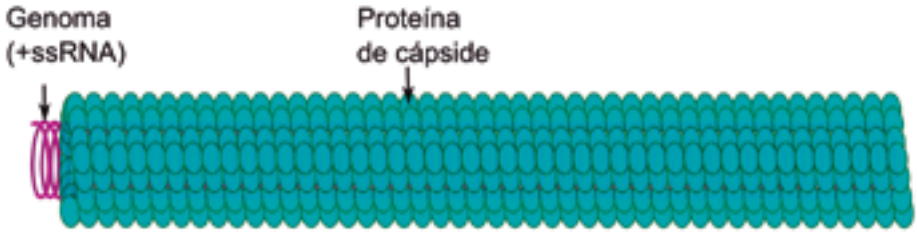


Figura 10. Estructura de varilla rígida del *Tobacco mosaic virus* (TMV), constituida por múltiples proteínas globulares de cápside que protegen en su interior el genoma de +ssRNA.

Fuente: autores

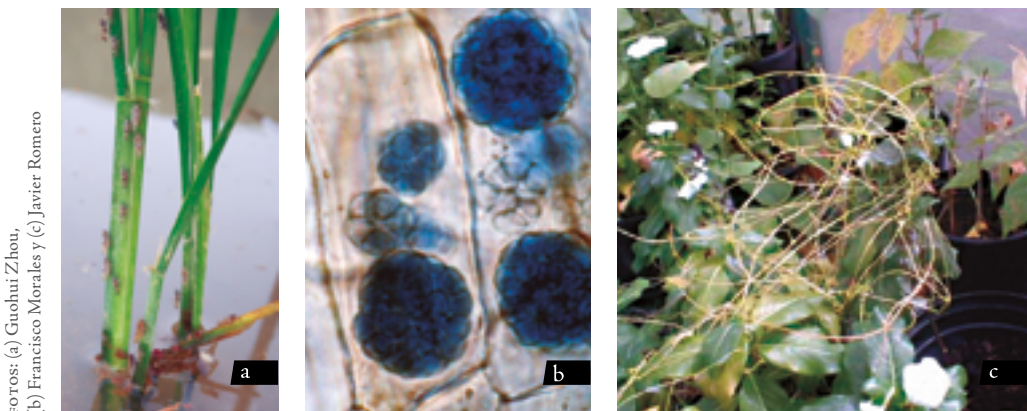
Kausche y colaboradores, en 1939, vieron por primera vez el TMV bajo el microscopio electrónico e identificaron su estructura filamentosa a partir del arreglo helicoidal de proteínas globulares (figura 10).

Por otra parte, Rawlins y Tompkins, en 1936, encontraron que rociar hojas con carborundum u otro agente abrasivo facilitaba la transmisión de virus entre plantas. Sin embargo, la transmisión viral ya había sido probada de forma práctica por los cultivadores de tulipanes holandeses al unir mitades de bulbos que producían flores variegadas, las que eran comercialmente más apetecidas. Como se indicó, hoy sabemos que esta variegación corresponde a uno de los síntomas causados por potyvirus en estas plantas.

A finales del siglo *IXX*, científicos japoneses descubrieron que la enfermedad del enanismo del arroz (*Rice dwarf virus* - RDV) era transmitida por insectos saltahojas, aunque aún no se conocía su naturaleza viral. Luego, en 1936, Fukushi nombró al RDV como el agente causal de esta enfermedad y comenzó una era de múltiples reportes de la transmisión por insectos de diferentes virus de plantas; fueron los áfidos (*Aphididae*), saltahojas (*Cicadellidae*) y saltapuntas (*Delphacidae*) los encontrados con mayor frecuencia.

Fue precisamente por estudios con áfidos que Watson y Roberts, en 1939, plantearon que la transmisión de virus podía ocurrir en unos casos de forma persistente (circulativa) y en otros de manera no persistente (no circulativa). Unos años después también se demostró

{ 49 }



FOTOS: (a) Guohui Zhou, (b) Francisco Morales y (c) Javier Romero

Figura 11. Algunos medios de transmisión de virus de plantas. a. Plantas de arroz en inundación con una fuerte infestación de *Sogatella furcifera*, el delfácido vector del Southern rice black streaked dwarf virus (SRBSDV); b. Quistosoros de *Polymyxa graminis*, el vector del Rice stripe necrosis virus (RSNV) (especie propuesta del género *Benyvirus*) que causa la enfermedad del entorchamiento del arroz en Sudamérica; c. Plantas de cuscuta utilizadas en evaluaciones experimentales de transmisión de virus.

el origen de la transmisión de algunos virus por parte de microorganismos del suelo, lo que fue más tarde confirmado: nematodos (Hewitt en 1958), hongos (Grogan en 1958) y protozoos (Calvert en 1966) podrían cumplir con tal actividad. En 1940, Bennett demostró que se podían usar plantas de *Cuscuta* spp. como medio para la transmisión de virus entre vegetales (figura 11).

Una vez profundizado el conocimiento de la epidemiología de las enfermedades virales, llegó la hora de evaluar métodos de control. Al respecto, uno de los primeros intentos fue el de Ksanis en 1950, quien empleó tratamientos con calor (37,5 °C), en tubérculos de papa, contra el virus que causa el enrollamiento foliar (*Potato leafroll virus* - PLRV). Dos años más tarde, Morel y Martin postularon que los meristemas podrían ser tejidos libres de virus, por lo que comenzó la multiplicación *in vitro* de plantas con ese fin. Paralelamente a estos esfuerzos profilácticos, se inició la evaluación por resistencia varietal a virus y en 1985 se generó la primera planta transgénica, a partir de la integración del gen de la cápside viral (CP) de TMV en el genoma de plantas transformadas, lo que unos años más tarde daría origen al conocimiento de los mecanismos de defensa celular basados en el RNA de interferencia (iRNA o SRNA).

Los experimentos clásicos de Hershey y Chase en 1952 —en los que se demostró que la bacteria *Escherichia coli* era infectada por un virus (bacteriófago) que inyectaba su material genético (DNA) en el citoplasma bacterial, mientras que la mayor parte de las proteínas permanecían en el exterior de las células— enfatizaron en la importancia de los ácidos nucleicos en la replicación viral. Finalmente, en 1956, Fraenkel-Conrat demostró la infectividad del RNA desnudo del TMV.

En ese mismo año, Crick y Watson sugirieron que las cápsides de los virus eran formadas por múltiples subunidades idénticas, arregladas bien de forma helicoidal o isométrica; luego se determinó que el material genético de los virus podría ser de RNA

de cadena sencilla (ssRNA) (1956) o de doble cadena (dsRNA) (1963), dsDNA (1968) y ssDNA (1977). En 1966, Lister encontró virus multipartículas como el *Tobacco rattle virus* (TRV); el investigador se valió de la técnica de centrifugación en gradiente de densidad desarrollada en 1951 por Brakke. En 1977 Van den Hurk y colaboradores encontraron que los virus también podían tener su genoma dividido (multipartita); utilizaron como modelo el virus del marchitamiento moteado del tomate (*Tomato spotted wilt virus* - TSWV). Este virus es, además, uno de los pocos que afectan plantas que presentan envoltura externa (figura 12).

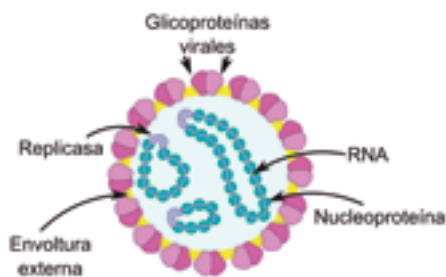


Figura 12. Diagrama de la estructura del virión del *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), un virus con genoma segmentado de ssRNA (ambisentido), replicasa preformada y envoltura externa. Fuente: ViralZone c2011.

En 1967, un equipo de investigadores japoneses liderados por Doi reportó la presencia de organismos similares a los micoplasmas (*Mycoplasma-like organisms*, MLO) que compartían varias características fitopatológicas con los virus, como su naturaleza filtrable, carácter obligado (holobiótrofos) y su movimiento sistémico vía floema. Estos microorganismos son ahora llamados fitoplasmas y espiroplasmas (Dominio Eubacteria) y sus enfermedades comúnmente se asocian con síntomas como amarillamientos (*yellowing*) y escobas de bruja (*witches' broom diseases*). Unos años más tarde, en 1972, French y otros investigadores descubrieron los organismos similares a rickettsias (*Rickettsia-Like organisms* - RLO) como agentes causales de la enfermedad de Pierce de la vid (*Pierce's disease of grapes*) y de la enfermedad del duraznero conocida como *Phony disease of peach*, ambas atribuidas por mucho tiempo

a virus, aunque hoy en día se sabe que su agente causal es la bacteria *Xylella fastidiosa*.

Es válido regresar a 1967, año en el que Theodor Diener caracterizó un patógeno más pequeño que un virus en plantas de papa con síntomas de tubérculo ahusado; lo llamó viroide, por carecer de cápside y consistir de una pequeña molécula circular de RNA usualmente de 200 a 400 nt, por lo que solo puede ser detectado mediante pruebas moleculares, como PAGE (*Polyacrylamide Gel Electrophoresis*) bidireccional (figura 13).

En la actualidad se han descrito cerca de 30 viroides en dos familias: *Pospiviroidae*, cuya especie tipo es *Potato spindle tuber viroid* (PSTVD), y *Awsunviroidae*, con la especie *Avocado sunblotch viroid* (ASBVD), causante de la enfermedad denominada mancha de sol de los frutos de aguacate (figura 13).

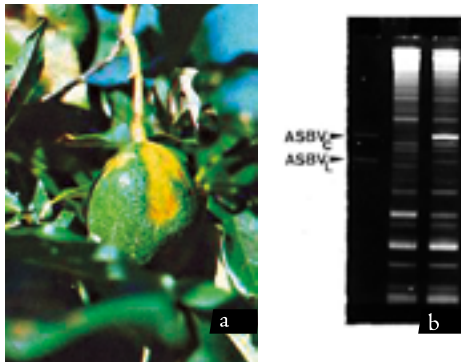


Figura 13. a. Síntomas de mancha de sol en frutos de aguacate infectados por *Avocado sunblotch viroid* (ASBVD); b. SDS-PAGE bidireccional que muestra dos configuraciones (circular y linear) del genoma del ASBVD.

Hoy se sabe que los virus infectan todo tipo de organismos. En humanos se estima que causan la mitad de las enfermedades infecciosas, e incluso se ha demostrado que algunos inducen el inicio de tumores cancerígenos (por ejemplo, *Human papillomavirus*). En el ámbito agrícola, se estima que los virus son responsables del 20% de las enfermedades de plantas, lo que causa reducciones importantes del rendimiento, la calidad de los cultivos y de sus productos, y limita la utilización

de su semilla sexual y asexual para siembras futuras. Esto resulta en el incremento de los costos de producción para los agricultores e implica la necesidad de establecer sistemas cuarentenarios complejos para evitar la dispersión entre regiones y países (figura 14).



Figura 14. Estados iniciales y finales de la infección viral en cultivos de tamarillo. La virosis del tamarillo en Sudamérica la causa un complejo de al menos ocho virus; como consecuencia, se reduce la longevidad de los cultivos del frutal, se afecta la calidad de los frutos y, por último, tal como se puede observar en la fotografía, ocurre la defoliación completa de las plantas.

Con respecto a los métodos de detección, hasta 1930 se utilizó como única base de diagnóstico de infección viral la observación de síntomas externos e internos en plantas indicadoras, caracterizadas por reaccionar con síntomas locales o sistémicos ante la

infección (figura 15), luego de la inoculación mecánica con savia de plantas presuntamente afectadas.



Figura 15. Síntomas de infección viral en plantas indicadoras. a. *Chenopodium amaranticolor* inoculada con un potyvirus no identificado que induce manchas cloróticas locales; b. *Ipomoea setosa* inoculada con *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV), que presenta una infección sistémica.

Los estudios de ese momento estuvieron acompañados por el inicio de los análisis fisicoquímicos de la savia infectada, que incluyeron evaluaciones como el punto final de dilución, punto térmico de inactivación, la longevidad *in vitro* y la solubilidad en solventes orgánicos, entre otros. La llegada del microscopio electrónico a finales de la década de 1930 revolucionó los sistemas de detección de virus, que fueron complementados con el uso de técnicas serológicas, pues por aquella época ya se conocían las propiedades antigénicas de los virus de plantas. En 1973, Derrick instauró la técnica de microscopía electrónica inmunoabsorbente (ISEM) y en 1979 se implementó la técnica de ELISA, desarrollada por

Clark y Adams (figura 16). Esta última causó un gran impacto sobre la detección a gran escala de virus vegetales en los esquemas de certificación de material de siembra sexual o asexual y para el apoyo de los estudios epidemiológicos de vectores y plantas hospedantes alternas. La técnica de ELISA fue más adelante mejorada por Dietzen y Sander (1982) con la obtención de anticuerpos monoclonales.

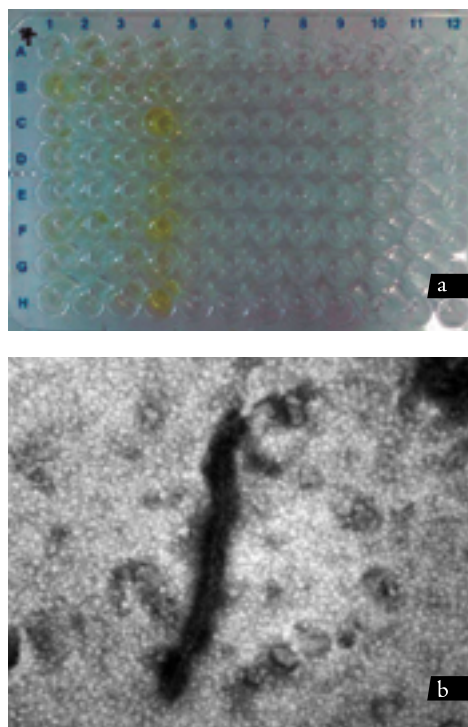


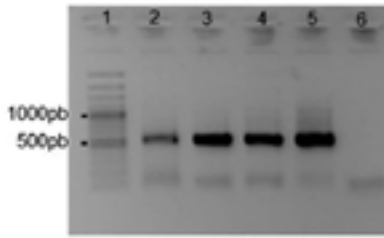
Figura 16. a. Placa con 96 pozos para realización de pruebas de ELISA con anticuerpos policlonales y revelado por reacción de fosfatasa alcalina (coloración amarilla) para la detección general de potyvirus; b. Decorado de una partícula filamentososa del *Sunflower mosaic virus* (SUMV) mediante la técnica de microscopía electrónica inmunoabsorbente (ISEM).

Paralelamente, se desarrollaron diferentes variaciones de las técnicas de hibridación de ácidos nucleicos. Se destaca el procedimiento de *dot-blot* y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Este último método, formulado en 1983 por el investigador californiano Kary Mullis, revolucionó todas las disciplinas biológicas y, por supuesto, la virología vegetal, no solo desde el

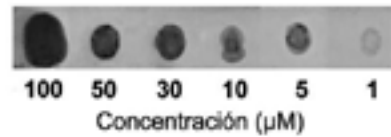
punto de vista del diagnóstico de virus al aumentar los niveles de sensibilidad, sino también al apoyar los estudios básicos de estructura y función de los genomas virales, pues es útil tanto para virus con genomas de DNA (PCR) como de RNA (RT-PCR) (retrotranscripción previa a PCR) (figura 17).

Partitiviridae. Posterior a esas técnicas se destaca el uso de PCR en tiempo real (qPCR y RT-qPCR), que no solo permite una detección altamente sensible de los virus, sino también su cuantificación por comparación con curvas estándar preestablecidas (figura 18).

FOTOS: AUTORES



a



b

Figura 17. a. Electroforesis en gel de agarosa luego de adelantar una RT-PCR para detección del gen de la cápside del *Potato mop-top virus* (PMTV). En la primera línea del gel se presenta el marcador de peso molecular de 100 pb y en la 6, el control negativo; b. Resultado de una prueba de *Dot-blot* para la detección del *Tamarillo leaf malformation virus* (TALMV) (*Potyvirus*); se utilizaron diferentes concentraciones de virus.

En el momento, las técnicas de ELISA y PCR/RT-PCR continúan en primera línea como métodos de diagnóstico rutinario de virus. La PCR puede tener otras modificaciones de gran utilidad en el campo virológico, como la PCR anidada (*Nested PCR*) e IC-PCR (Inmunocaptura-PCR), ambas pruebas fundamentales para la detección de virus que presentan bajo título viral, como por ejemplo aquellos crípticos de la familia

En la actualidad los métodos de detección y diagnóstico de virus están sufriendo una gran transformación con la utilización de sistemas de secuenciación de nueva generación (*Next-Generation Sequencing* - NGS), también conocidos como de secuenciación masiva o paralela. Dichos sistemas no requieren planteamiento *a priori* de los virus que se evaluarán, pues utilizan sondas y cebadores genéricos que se unen con adaptadores de

{ 53 }

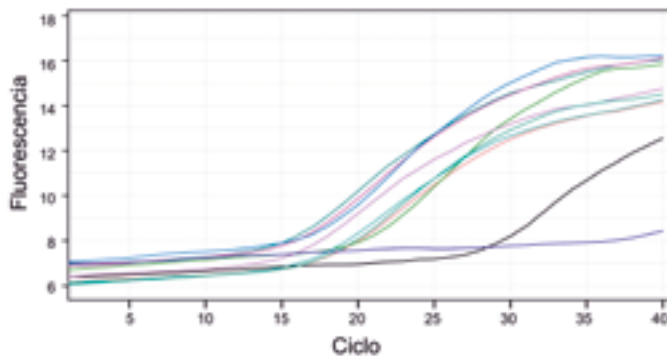


Figura 18. Detección del *Potato virus Y* (PVY) por RT-PCR en tiempo real mediante el empleo de *primers* específicos y sonda Taqman. Las curvas representan la amplificación de cada muestra. Nótese la falta de amplificación en el control negativo (línea azul inferior) después de 40 ciclos y las diferencias en valores Ct (ciclo umbral).

Fuente: autores

secuencias conocidas para generar las librerías de DNA o cDNA (para virus de RNA), que representan la totalidad de los ácidos nucleicos concurrentes en muestras individuales o complejas (metagenómicas).

Los sistemas NGS más utilizados corresponden a los basados en pirosecuenciación (por ejemplo, 454 de Roche), secuenciación por síntesis con fluorocromos (como HiSeq de Illumina) y aquellos que utilizan el cambio de pH durante la incorporación de nucleótidos en la polimerización del DNA (por ejemplo, Ion Torrent de Applied Biosystems). Con ello, se generan extensas cantidades de datos de secuencias que, por métodos bioinformáticos, son filtrados, ensamblados y comparados con bases de datos moleculares (como GenBank, EMBL), con el fin de establecer identidades con respecto a secuencias de origen viral y de esta forma plantear hipótesis de identificación taxonómica de los componentes del viroma (figura 19).

El viroma de un hospedante, tejido o población se define como la sumatoria de especies virales presentes en la muestra bajo análisis, e incluye las variantes identificadas para cada especie y las proporciones relativas de cada uno de los virus detectados. Los tipos de análisis relacionados no solo permiten el diagnóstico de virus conocidos sino que también facilitan enormemente la caracterización genética y la posibilidad de encontrar nuevas especies o variantes de virus desconocidas.

A pesar del increíble cúmulo de conocimientos que se han generado sobre los virus en general, y de aquellos que afectan las plantas en particular, son muchas las preguntas que permanecen sin resolver, entre ellas las atinentes a las bases que regulan la interacción de los componentes virales (genomas y proteínas) con sus contrapartes en los hospedantes, a los mecanismos moleculares que subyacen tras las relaciones persistentes y no persistentes en la transmisión de los virus por parte de insectos y otros vectores, a los procesos que conducen a la integración de los genomas de algunos virus en los cromosomas de sus hospedantes y a los mecanismos de recombinación, rearrreglo genético y a los procesos evolutivos que sufren los virus.

Desde el punto de vista aplicado a la agricultura, es imperativo continuar con el estudio de los mecanismos que rigen los sistemas de defensa innata e inducida de las plantas a las infecciones virales, así como su utilización en forma práctica en programas de mejoramiento genético vegetal. De modo similar, es necesario proseguir con la búsqueda de moléculas antivirales que puedan apoyar los programas de manejo integrado de enfermedades y la optimización de los sistemas de transgénesis por resistencia a virus, según rigurosos principios de bioseguridad y sostenibilidad ambiental.

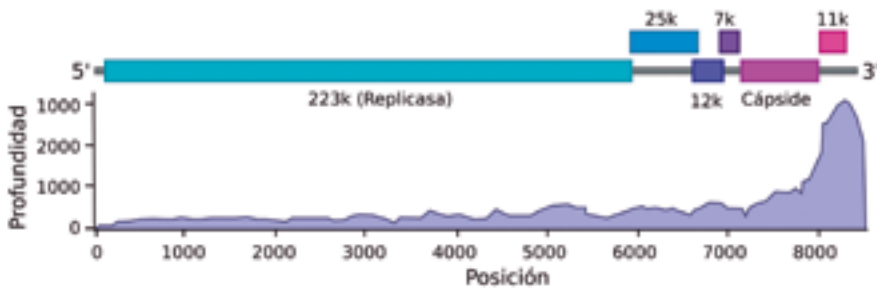


Figura 19. Resultado del ensamblaje del genoma de una nueva variante del *Potato virus S* (PVS), identificada por pirosecuenciación en plantas de papa criolla (*Solanum phureja*) en Colombia. Ya que el RNA fue extraído mediante columnas afines a extremos 3' de poli-A, se presenta una mayor profundidad en la secuenciación de este extremo en comparación con la región 5'. En la parte superior se presenta la estructura genómica del PVS como base de comparación. Fuente: autores





Nomenclatura y taxonomía de virus

La dificultad técnica que representa el estudio de los virus, dados sus tamaños y las notables diferencias estructurales con respecto a los seres vivos con organización celular, ha afectado enormemente el establecimiento de los sistemas de nomenclatura y clasificación.

Solo hasta 1966 se consiguió establecer una organización internacional de microbiólogos que definiera los esquemas más convenientes para lograr una sistematización. En ese año, con el amparo del Congreso Internacional de Microbiología realizado en Moscú, nació la división de Virología de la Unión Internacional de Sociedades Microbiológicas (IUMS), que hoy cuenta con estructura y se denomina Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV).

Desde la reunión de los años sesenta, se han realizado nueve reportes del ICTV (tabla 2), en los que se han establecido los criterios para la delimitación de órdenes, familias, géneros y especies de virus, así como la aceptación de una definición del concepto de especie viral, con base en la proposición realizada por van Regenmortel (1990): “Una especie viral es una clase politética de virus que constituye un linaje replicativo y ocupa un nicho ecológico particular”. El carácter politético referido en la definición representa la necesidad de caracterizar los grupos taxonómicos con base en múltiples aspectos (por ejemplo, genéticos, bioquímicos, estructurales, biológicos, serológicos).

Tabla 2. Evolución de la taxonomía de virus, según los reportes del Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV)

Reporte ICTV, editor y año de publicación	Congresos de virología que preceden el reporte	Contenido taxonómico establecido
I - Wildy 1971	Helsinki, 1968	43 familias y grupos no definidos
II - Fenner 1976	Budapest, 1971 y Madrid, 1975	47 familias y grupos no definidos
III - Matthews 1979	La Haya, 1978	50 familias y grupos no definidos
IV - Matthews 1982	Estrasburgo, 1981	54 familias y grupos no definidos
V - Francki et al. 1991	Sendai, 1984, Edmonton, 1987, Berlín, 1990	2.420 virus asociados a 73 familias o grupos no definidos
VI - Murphy et al. 1995	Glasgow, 1993	1 orden, 50 familias, 9 subfamilias, 164 géneros y 3.600 especies de virus
VII - Van Regenmortel et al. 2000	Jerusalén, 1996	3 órdenes, 63 familias, 9 subfamilias, 240 géneros, 1.550 especies de virus
VIII - Fauquet et al. 2005	Sidney, 1999; París, 2002	3 órdenes, 73 familias, 11 subfamilias, 289 géneros y 1.898 especies de virus
IX - King et al. 2012	Estambul, 2008	6 órdenes, 87 familias, 19 subfamilias, 349 géneros, 2.284 especies de virus y viroides

Fuente: King et al. 2012

Las especies de virus no son poblaciones uniformes de cepas, sino que corresponden a un amplio rango de variantes cuyos genomas están en constante variación genética, competencia y selección, por lo que con frecuencia son referidas como *cuasiespecies* (figura 20). Una característica de dichas cuasiespecies es el predominio de una o varias secuencias principales (secuencias maestras) en las poblaciones virales, así como la ocurrencia de un equilibrio metaestable que puede cambiar como resultado de la selección positiva de un mutante con altos niveles de competencia ecológica (*fitness*).

Los reportes del ICTV han definido las bases para el uso común (vulgar) y formal de los nombres de los virus. De esta forma es posible diferenciar las referencias al nombre científico (nomenclatura formal) de aquellas designaciones no formales. Para el primer caso, se utiliza el idioma inglés, se emplea la letra cursiva, la primera palabra del nombre de la especie lleva mayúscula inicial y este finaliza con la palabra *virus* (por ejemplo, *Tobacco mosaic virus*); sin embargo aún

hoy, existen controversias en la escritura científica de los nombres de virus, pues no siempre resulta fácil diferenciar el concepto abstracto de la especie viral (nombre en cursivas) del ente viral (no en cursivas). Para la designación de los nombres vulgares, se puede utilizar el idioma de preferencia, no se emplea cursiva ni mayúscula inicial (por ejemplo, virus del mosaico del tabaco).

La nomenclatura de virus no utiliza el sistema binomial de Linneo; por el contrario, los nombres de especies usualmente incluyen tres o más palabras, por lo común derivadas del primer hospedante (o del más importante en términos económicos) en el que se reportó el virus, seguido de uno o varios de los síntomas principales y, para finalizar, de la palabra virus (por ejemplo, *Tomato yellow leaf curl virus*). En algunos casos se puede utilizar como complemento una referencia a la región geográfica en la que se registró primero el virus (como *Tomato yellow leaf curl Vietnam virus*; *Sri Lankan cassava mosaic virus*; *African cassava mosaic virus*) o se denomina con el lugar de su hallazgo, tal como ocurre con el virus

{ 58 }



Figura 20. Dendrograma circular basado en análisis de secuencias del gen de la cápside de diferentes variantes del *Potato virus S* (PVS) reportadas en el mundo. Se aprecian los altos niveles de divergencia de esta cuasiespecie viral. En las ramas se presentan los valores de *bootstrap* y entre paréntesis los números de acceso del GenBank de las secuencias. Fuente: autores

que causa la enfermedad de Fiyi de la caña de azúcar (*Fiji disease virus*) o el mal del Río Cuarto del maíz (*Mal de Río Cuarto virus*), detectado en cercanías a esta ciudad de la provincia de Córdoba, Argentina.

En algunas ocasiones pueden existir variaciones en la nomenclatura, como aquellas en las que se utilizan letras o números para la diferenciación de especies, lo que ocurre con algunos de los virus de papa: *Potato virus Y*, *Potato virus X*, *Potato virus S*, *Potato virus V*, o con algunos que afectan a la vid: *Grapevine leafroll-associated virus 1*, *Grapevine leafroll-associated virus 3*, *Grapevine leafroll-associated virus 5*; también se pueden presentar nombres de especies de virus en otros idiomas diferentes del inglés (por ejemplo, *Maize rayado fino virus*).

Como los nombres de algunos virus pueden ser muy extensos, es común utilizar abreviaciones o siglas para facilitar la escritura y lectura de artículos, reportes y demás textos virológicos. Con el fin de regular dichas siglas, el ICTV ha establecido una serie de reglas que evitan su redundancia y mal empleo. Entre otros aspectos, dicha normatividad contempla el uso de las letras iniciales de cada palabra del nombre de la especie viral (por ejemplo, *Tobacco mosaic virus*, TMV; *Fiji disease virus*, FDV), la utilización de letras secundarias para la clarificación de los hospedantes o síntomas (por ejemplo, *Euphorbia mosaic virus*, EUMV; *Citrus sudden death-associated virus*, CSDAV) y el uso de números (por ejemplo, *Grapevine leafroll-associated virus 3*, GLRAV-3). Como esta regulación es relativamente reciente, es frecuente encontrar abreviaturas idénticas para virus diferentes, lo que genera problemas de comunicación científica. Por ejemplo, ALV es la sigla de *Arracacha latent virus* y de un alpharetrovirus de aves (*Avian leukosis virus*); scv la de *Strawberry crinkle virus*, del virus de levaduras *Saccharomyces cerevisiae virus* y del virus de mamíferos *Skunk calicivirus*.

La denominación de los aislamientos y cepas de cada especie también se basa en un sistema general de nomenclatura que ha venido unificando el ICTV

en sus últimos reportes. Se emplea el nombre del aislamiento en letras redondas, no cursivas, separado por un guion de referencias específicas como país o región de procedencia, razas o cepas virales, fechas de detección u otras características relacionadas con su colección inicial. Dos ejemplos ilustrativos son:

- Especie viral: *Beet curly top Iran virus* con los siguientes aislamientos:

Beet curly top Iran virus - [Iran:Kerman:2007] (BCTIRV-[IR:Ker:07])

Beet curly top Iran virus - [Iran:Shiraz:2007] (BCTIRV-[IR:shi:07])

Beet curly top Iran virus - [Iran:Yazd:2007] (BCTIRV-[IR:Yaz:07])

- Especie viral: *Maize streak virus* (tiene al menos 11 cepas denominadas desde MSV-A hasta MSV-K):

Maize streak virus - A [Kenya:k7:1988] (MSV-A KE:k7:88)

Maize streak virus - B [South Africa:Vaalhart Wheat:1993] (MSV-B[ZA:vw:93])

Maize streak virus - C1 [Burundi:Rob3:1990] (MSV-C1[BI:Rob3:90])

Maize streak virus - D [J1C16:Paspalum:2002] (MSV-D[J1C16:Pas:02])

Maize streak virus - E [Nigeria:g79:2007] (MSV-E[NG:g79:07])

Nótese el uso de letras no itálicas (no cursivas) para referir el nombre de los aislamientos virales y el uso de paréntesis y corchetes en las abreviaturas.

En virología, los nombres de los *taxa* supraespecíficos corresponden a una sola palabra y se identifican por sufijos: *-virus* (género), *-virinae* (subfamilia), *-viridae* (familia) y *-virales* (orden). Se deben escribir en cursivas, con mayúscula inicial y siempre precedidos del respectivo taxón (por ejemplo: el género *Tobamovirus* corresponde...), mientras que en su escritura común usualmente se utilizan estos nombres en plural y en letras minúsculas (ejemplo: los tobamovirus son...).

Para el caso de los viroides, la nomenclatura es similar a la descrita para virus, pero el nombre de las especies termina con la palabra *viroid*; en los géneros se emplea el sufijo *viroid* y en las familias el sufijo *viroidae*. Por ejemplo, el viroide que causa la mancha de sol del aguacate tiene como nombre formal *Avocado sunblotch viroid* y hace parte del género *Avsunviroid* de la familia *Avsunviroidae*. Uno de los aislamientos de este viroide se identifica como *Avocado sunblotch viroid - avocado* (ASBVD-avo) (nótese el uso de vd en la abreviatura de la especie).

Al presente, el principal criterio para asignar aislamientos virales a un taxón determinado es la definición de niveles de identidad de las secuencias de todo el genoma o de marcos de lectura abierta (*Open Reading Frame*, ORF). Por ejemplo, para el género *Potyvirus*, Adams et al. (2005) han utilizado como criterio para la demarcación de especies valores de identidad inferiores al 76 % y 82 %, para secuencias de nucleótidos (nt) y aminoácidos (aa) respectivamente, en lo que concierne a todo el genoma; por su parte, para la delimitación de géneros dentro de

Tabla 3. Matriz de identidad basada en secuencias del gen de la cápside viral de cuatro especies de potyvirus procedentes de plantas de solanáceas de diferentes lugares del mundo

Virus	1. PVV	2. PVY	3. ECRV	4. PVV	5. PVV	6. PVV	7. PVV	8. PTV
1. <i>Potato virus V</i> (pvv) (Colombia)*	ID	0,71	0,79	0,87	0,87	0,87	0,89	0,83
2. <i>Potato virus Y</i> (pvv) (Argentina) (X14136)	0,71	ID	0,67	0,69	0,69	0,69	0,714	0,72
3. <i>Ecuadorian rocoto virus</i> (ecrv) (Ecuador) (EU495234)	0,79	0,67	ID	0,79	0,80	0,79	0,793	0,79
4. <i>Potato virus V</i> (pvv) (Escocia) (GU144342)	0,87	0,69	0,79	ID	0,98	0,99	0,873	0,83
5. <i>Potato virus V</i> (pvv) (Shetland, Reino Unido) (GU144331)	0,87	0,69	0,80	0,98	ID	0,98	0,876	0,84
6. <i>Potato virus V</i> (pvv) (Suecia) (AJ516024)	0,87	0,69	0,79	0,99	0,98	ID	0,872	0,83
7. <i>Potato virus V</i> (pvv) (EE. UU.) (AY521595)	0,89	0,71	0,79	0,87	0,87	0,87	ID	0,83
8. <i>Peru tomato mosaic virus</i> (ptv) (Perú) (AJ616024)	0,83	0,72	0,79	0,83	0,84	0,83	0,839	ID

* Entre paréntesis se presenta la abreviatura de la especie, el país de aislamiento y el número de accesoión del GenBank, cuando está disponible.

Fuente: autores

la familia *Potyviridae* el criterio utilizado es una identidad en nucleótidos inferior al 46 % (no útil para separar rymovirus de potyvirus). Cuando no es posible la secuenciación de todo el genoma, el gen que más refleja las relaciones filogenéticas en este grupo es CI (*cylindrical inclusion protein*), y cuando solo están disponibles las secuencias de la cápside, el nivel de identidad planteado por dichos autores para definir especies es <77 %.

En la actualidad, el ICTV ha desarrollado una estrategia de publicación en línea de toda la información relacionada con sus comités y grupos de estudio, disponible en www.ictvonline.org. Además, el ICTV alberga el sitio <http://talk.ictvonline.org> exclusivamente para la formulación de propuestas taxonómicas y la discusión de la comunidad mundial de virólogos. La tabla 4 y la figura 21 presentan un resumen de la taxonomía de virus de plantas aprobada por el IX Reporte del ICTV (2012).

Tabla 4. Taxonomía de virus y viroides de plantas aprobada por el IX Reporte del ICTV. Figuran también algunas de las características estructurales de cada grupo viral

Orden	Familia o género*	Genoma	Morfología**	Taxa***
No asignado	<i>Geminiviridae</i>	ssDNA, 1 o 2 segmentos circulares, 2,5-3 kb por segmento	Icosaédrico, sin env., 22 x 38 nm	<i>Mastrevirus</i> <i>Curtovirus</i> <i>Topocuvirus</i> <i>Begomovirus</i>
No asignado	<i>Nanoviridae</i>	ssDNA, segmentos circulares múltiples (nanovirus: 8, babuvirus: 6); 0,98-1,1 kb por segmento	Icosaédrico, sin env., 18-20 nm	<i>Nanovirus</i> <i>Babuvirus</i>
No asignado	<i>Caulimoviridae</i>	dsDNA(RT), circular no covalentemente cerrado, 7,2-9,2 kpb	Icosaédrico 50-52 nm o baciliforme 30 nm x 130-150 nm, sin env.	<i>Caulimovirus</i> <i>Petuvirus</i> <i>Soymovirus</i> <i>Cavemovirus</i> <i>Badnavirus</i> <i>Tungrovirus</i>
No asignado	<i>Metaviridae</i> (plantas, hongos, animales)	+ssRNA(RT), 1 segmento lineal, 4-10 kb	No definida con y sin env.	<i>Metavirus</i> (plantas, hongos, invertebrados) <i>Errantivirus</i> (invertebrados) <i>Semotivirus</i> (invertebrados)
No asignado	<i>Pseudoviridae</i> (plantas, algas, hongos, invertebrados, protozoos)	+ssRNA(RT), 1 segmento lineal, 5-9 kb	Icosaédrico, sin env., 60-80 nm	<i>Pseudovirus</i> (hongos, plantas) <i>Hemivirus</i> (algas, invertebrados, hongos) <i>Sirevirus</i> (plantas)
No asignado	<i>Endornaviridae</i> (algas, hongos, plantas)	dsRNA, 1 segmento lineal, 14-18 kpb	Pleomórfico, RNA viral contenido en vesículas (no se forman viriones)	<i>Endornavirus</i>

No asignado	<i>Partitiviridae</i> (plantas y hongos)	dsRNA, 2 segmentos lineales, 1,4 a 2,4 kpb por segmento	Icosaédrico, sin env., 20-43 nm	<i>Alphacryptovirus</i> (plantas) <i>Betacryptovirus</i> (plantas) <i>Partitivirus</i> (hongos) <i>Cryspovirus</i> (protozoos)
No asignado	<i>Reoviridae</i> (hongos, invertebrados, plantas, vertebrados, protozoos)	dsRNA, 9-12 segmentos lineales, 19-32 kpb en total del genoma	Forma de cúpula (<i>Spinareovirinae</i>) o icosaédrico (<i>Sedoreovirinae</i>) 60-85 nm	15 géneros, tres con virus de plantas e invertebrados: <i>Fijivirus</i> <i>Phytoreovirus</i> <i>Oryzavirus</i>
Mononegavirales	<i>Rhabdoviridae</i> (vertebrados, invertebrados, plantas)	-ssRNA, 1 segmento lineal, 11 -15 kb	Baciliforme, con env., 45-100 nm x 100-430 nm	6 géneros, dos con virus de plantas: <i>Cytorhabdovirus</i> <i>Nucleorhabdovirus</i>
No asignado	<i>Bunyaviridae</i> (vertebrados, invertebrados, plantas)	+/-ssRNA, 3 segmentos lineales, 6,4-12,3; 3,9-5,4 y 0,96-3 kb	Esférico, con env., 80-120 nm	5 géneros. Uno con virus de plantas: <i>Tospovirus</i>
No asignado	<i>Ophioviridae</i>	-ssRNA, 3 a 4 segmentos lineales, 7,6-8,2; 1,6-1,8; 1,5 y 1,4	Filamentoso, sin env., 3nm x >760 nm	<i>Ophiovirus</i>
No asignado	<i>Emaravirus</i>	-ssRNA, 4 segmentos lineales, 7, 2,3, 1,6 y 1,4	Esférico, con env., 80-100 nm	Especie tipo: <i>European mountain ash ringspot- associated virus</i>
No asignado	<i>Tenuivirus</i> (plantas, invertebrados)	+/-ssRNA, 4-6 segmentos lineales, 17-23 kb total genoma	Filamentoso, sin env., 3-10 nm x >100 nm	Especie tipo: <i>Rice stripe virus</i>
No asignado	<i>Varicosavirus</i>	-ssRNA, 2 segmentos lineales, 6,8 y 6,1 kb	Varilla rígida, 18 nm x 320-360 nm	Especie tipo: <i>Lettuce big-vein associated virus</i>
Picornavirales	<i>Secoviridae</i>	+ssRNA, 1 o 2 segmentos lineales, monopartita: 9,8- 12,5 kb; bipartita: 5,8-8,4; 3,3-7,3 kb	Icosaédrico, sin env., 25-30 nm	<i>Comovirus</i> <i>Fabavirus</i> <i>Nepovirus</i> <i>Cheravirus</i> <i>Sadwavirus</i> <i>Torradovirus</i> <i>Sequivirus</i> <i>Waikavirus</i>
Tymovirales	<i>Alphaflexiviridae</i> (Plantas, hongos)	+ssRNA, 1 segmento lineal, 6-9 kb	Filamentoso, sin env., 10-15 nm x 470-800 nm	<i>Allexivirus</i> <i>Botrexvirus</i> (hongos) <i>Lolavirus</i> <i>Mandarivirus</i> <i>Potexvirus</i> <i>Sclerodarnavirus</i> (hongos)

<i>Tymovirales</i>	<i>Betaflexiviridae</i>	+ssRNA, 1 segmento lineal, 6-9 kb	Filamentoso, sin env., 10-15 nm x 600-1.000 nm	<i>Capillovirus</i> <i>Carlavirus</i> <i>Citricivirus</i> <i>Foveavirus</i> <i>Trichovirus</i> <i>Vitivirus</i>
<i>Tymovirales</i>	<i>Tymoviridae</i>	+ssRNA, 1 segmento lineal, 6-7,5 nm	Icosaédrico, sin env., 30 nm	<i>Tymovirus</i> <i>Marafivirus</i> <i>Maculavirus</i>
No asignado	<i>Bromoviridae</i>	+ssRNA, 3 segmentos lineales, 3,4; 2,8 y 2,3 kb	Icosaédrico 25-35 nm o baciliforme 18-26 nm x 30-85 nm, sin env.	<i>Alfavirus</i> <i>Anulavirus</i> <i>Bromovirus</i> <i>Cucumovirus</i> <i>Ilarvirus</i> <i>Oleavirus</i>
No asignado	<i>Closteroviridae</i>	+ssRNA, 1-3 segmentos lineales, monopartita: 13-19 kb; bipartita: 8-9; 8-9; tripartita: 8; 5,3 y 3,9 kb	Filamentoso 12 nm x 650-2.000 nm, sin env.	<i>Closterovirus</i> <i>Ampelovirus</i> <i>Crinivirus</i>
No asignado	<i>Luteoviridae</i>	+ssRNA, 1 segmento lineal, 5-6 kb	Icosaédrico 25-30 nm, sin env.	<i>Luteovirus</i> <i>Polerovirus</i> <i>Enamovirus</i>
No asignado	<i>Potyviridae</i>	+ssRNA, 1 o 2 segmentos lineales; monopartita: 9,3-10,8 kb; bipartita: 7,3-7,6; 3,5-3,7 kb	Filamentoso, monopartita: 11-15 nm x 650-900 nm; bipartita: 11-15 nm x 250-300 nm y 500-600 nm, sin env.	<i>Potyvirus</i> <i>Ipomovirus</i> <i>Macluravirus</i> <i>Rymovirus</i> <i>Tritimovirus</i> <i>Brambyvirus</i> <i>Bymovirus</i>
No asignado	<i>Tombusviridae</i>	+ssRNA, 1 o 2 segmentos lineales, monopartita: 3,7-4,8 kb; bipartita: 3,8; 1,4 kb	Icosaédrico, 28-35 nm, sin env.	<i>Tombusvirus</i> <i>Dianthovirus</i> <i>Aureusvirus</i> <i>Avenavirus</i> <i>Carmovirus</i> <i>Necrovirus</i> <i>Panicovirus</i> <i>Machlomovirus</i>
No asignado	<i>Virgaviridae</i>	+ssRNA, 1-3 segmentos lineales, monopartita: 6,3-6,6 kb; bipartita: 6-7; 1,8-4,5 kb; tripartita: 3,7-6; 3-3,6 y 2,5-3,2 kb	Varilla rígida, 18-21 nm x 50-310 nm, sin env.	<i>Furovirus</i> <i>Hordeivirus</i> <i>Pecluvirus</i> <i>Pomovirus</i> <i>Tobamovirus</i> <i>Tobravirus</i>
No asignado	<i>Benyvirus</i>	+ssRNA, 4 o 5 segmentos lineales, 6,7; 4,6; 1,8; 1,4 y 1,3 kb	Varilla rígida, 20 nm x 65-390 nm, sin env.	Especie tipo: <i>Beet necrotic yellow vein virus</i>
No asignado	<i>Cilevirus</i>	+ssRNA, 2 segmentos lineales, 8,7 y 5 kb	Baciliforme, 50-55 nm x 120-130 nm, sin env.	Especie tipo: <i>Citrus leprosis virus C</i>

No asignado	<i>Idaeovirus</i>	ssRNA+, 2 segmentos lineales, 5,5 y 2,2 kb	Icosaédrico, 33 nm, sin env.	Especie tipo: <i>Raspberry bushy dwarf virus</i>
No asignado	<i>Ourmiavirus</i>	+ssRNA, 3 segmentos lineales, 2,8; 1,1 y 0,97 kb	Baciliforme, 18 nm x 30-62 nm, sin env.	Especie tipo: <i>Ourmia melón virus</i>
No asignado	<i>Polemovirus</i>	ssRNA+, 1 segmento lineal, 4,6 kb	Icosaédrico, 34 nm, sin env.	Especie tipo: <i>Poinsettia latent virus</i>
No asignado	<i>Sobemovirus</i>	+ssRNA, 1 segmento lineal, 4-5 kb	Icosaédrico, 25-30 nm, sin env.	Especie tipo: <i>Southern bean mosaic virus</i>
No asignado	<i>Umbravirus</i>	+ssRNA, 1 segmento lineal, 4-4,2 kb	No viriones	Especie tipo: <i>Carrot mottle virus</i>
Viroides	<i>Avsunviroidae</i>	RNA, 1 circular, 250-400 nt,	No cápside, <50 nm	<i>Avsunviroid</i> <i>Pelamoviroid</i> <i>Elaviroid</i>
Viroides	<i>Pospiviroidae</i>	RNA, 1 circular, 250-375 nt,	No cápside, <50 nm	<i>Pospiviroid</i> <i>Hostuviroid</i> <i>Cocadviroid</i> <i>Apscaviroid</i> <i>Coleviroid</i>

* Cuando algunas especies de virus del taxón referido afectan otros hospedantes además de plantas, estos se indican entre paréntesis. ** Sin env.: Sin envoltura externa; Con env.: Con envoltura externa. *** Para los géneros se menciona la especie tipo; para familias se indican los géneros.
Fuente: King et al. 2012

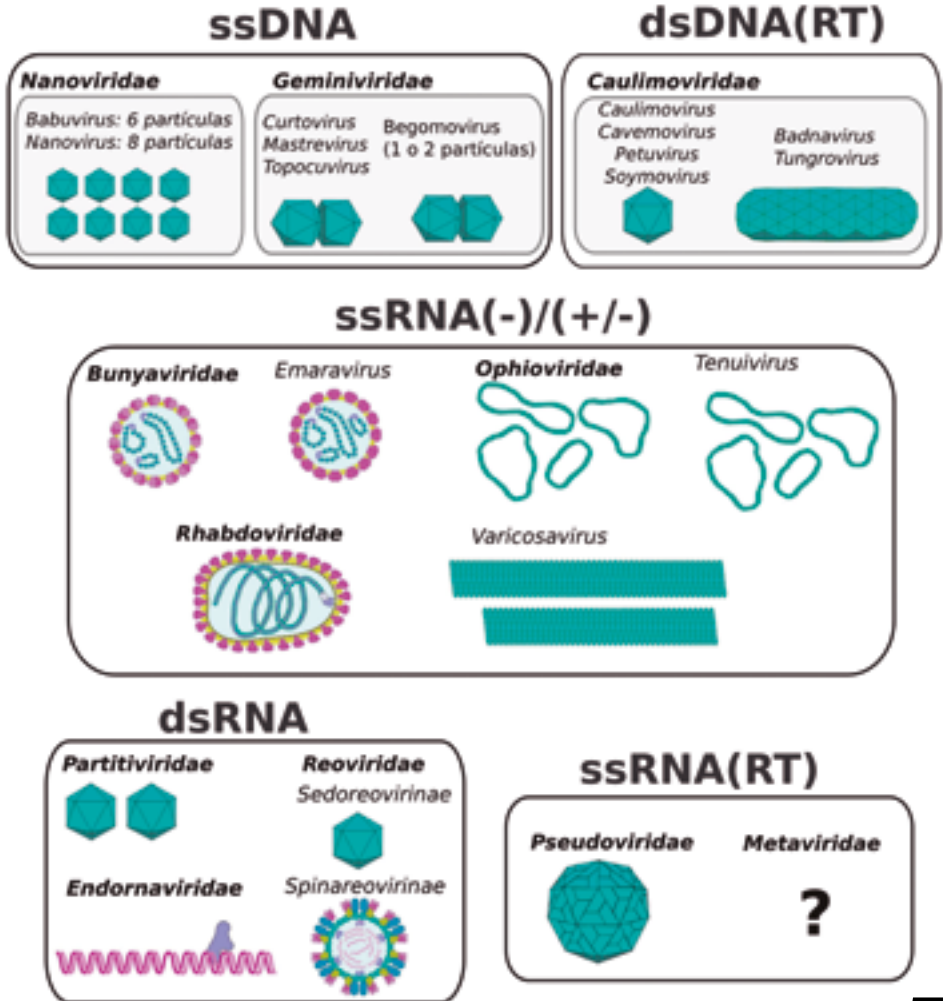
{ 64 }

Como se puede apreciar en la tabla 4, tan solo existen tres órdenes formalmente designados que incluyen familias de virus de plantas: *Picornavirales* (familia *Secoviridae*), *Mononegavirales* (familia *Rhabdoviridae*) (este orden también presenta virus de animales vertebrados e invertebrados) y *Tymovirales* (familias *Alphaflexiviridae*, *Betaflexiviridae* y *Tymoviridae*) (este orden también presenta virus de hongos). La dificultad para establecer órdenes en la taxonomía de virus se debe a la ausencia de caracteres comunes entre los miembros de las diferentes familias. Así mismo, hasta el IX reporte del ICTV sigue siendo considerable el número de géneros no asignados a una familia particular (por ejemplo, géneros *Tenuivirus* y *Sobemovirus*).

Además de la taxonomía formal reglamentada por el ICTV, en la virología se han empleado esquemas de clasificación alternativos. Uno de los más utilizados

es el sistema de Baltimore (creado por David Baltimore, premio Nobel de Medicina en 1975 por sus trabajos sobre virus oncogénicos). Este sistema se fundamenta en el tipo de ácido nucleico contenido en los viriones (partículas maduras de un virus) y en las rutas que requiere cada grupo para generar sus RNA mensajeros (mRNA). El esquema divide los virus en siete grupos principales (I a VII), ilustrados en la figura 22.

De los siete grupos indicados en la clasificación, los virus de plantas se ubican en seis de ellos (II, III, IV, V, VI y VII), dado que hasta el momento se considera que aquellos con genoma de DNA de doble cadena (dsDNA) (por ejemplo, badnavirus, caulimovirus) utilizan una retrotranscriptasa (RT) para su replicación y, por tanto, han sido asociados con el grupo VII de los pararetrovirus, que también incluye a los hepadnavirus de animales.



{ 65 }

ssRNA (+)

Closteroviridae

Closterovirus/Ampelovirus

Crinivirus

Potyviridae

Bymovirus

Potyvirus y otros géneros

Tymovirales

Alphaflexiviridae

Betaflexiviridae

Tymoviridae

Virgaviridae

Furovirus

Hordeivirus

Peculivirus

Pomovirus

Tobamovirus

Tobravirus

Benyvirus

Secoviridae

Sequivirus
Waikavirus

Comovirinae
Cheravirus
Sadwavirus
Torradovirus

Bromoviridae

Alfavirus
Ilarvirus
Oleavirus

Anulavirus
Bromovirus
Cucumovirus
Ilarvirus

Luteoviridae

Polemavirus
Sobemovirus
Tombusviridae

Ourmiavirus

Idaeovirus

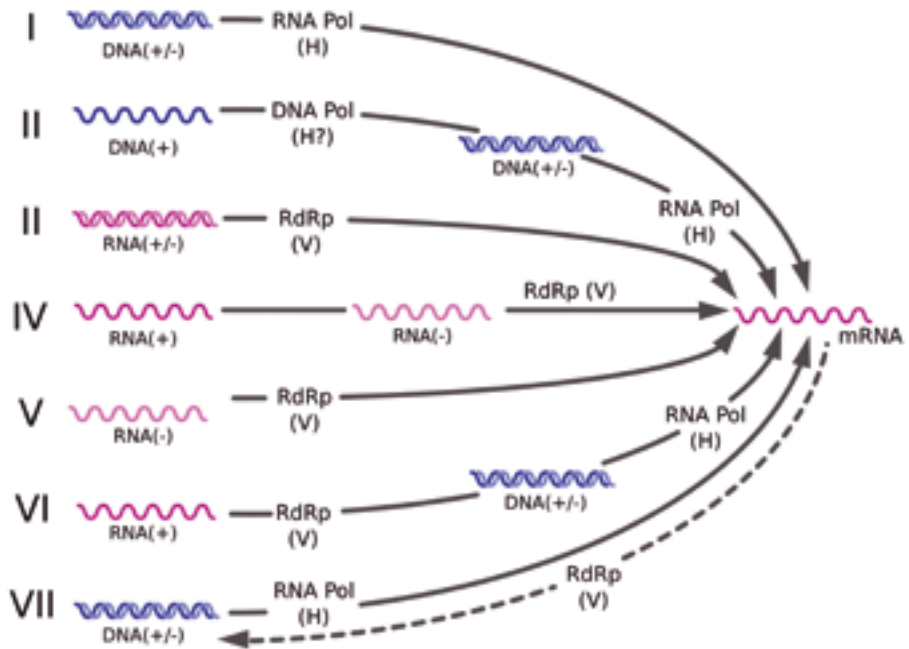
Cilevirus

Umbravirus

b

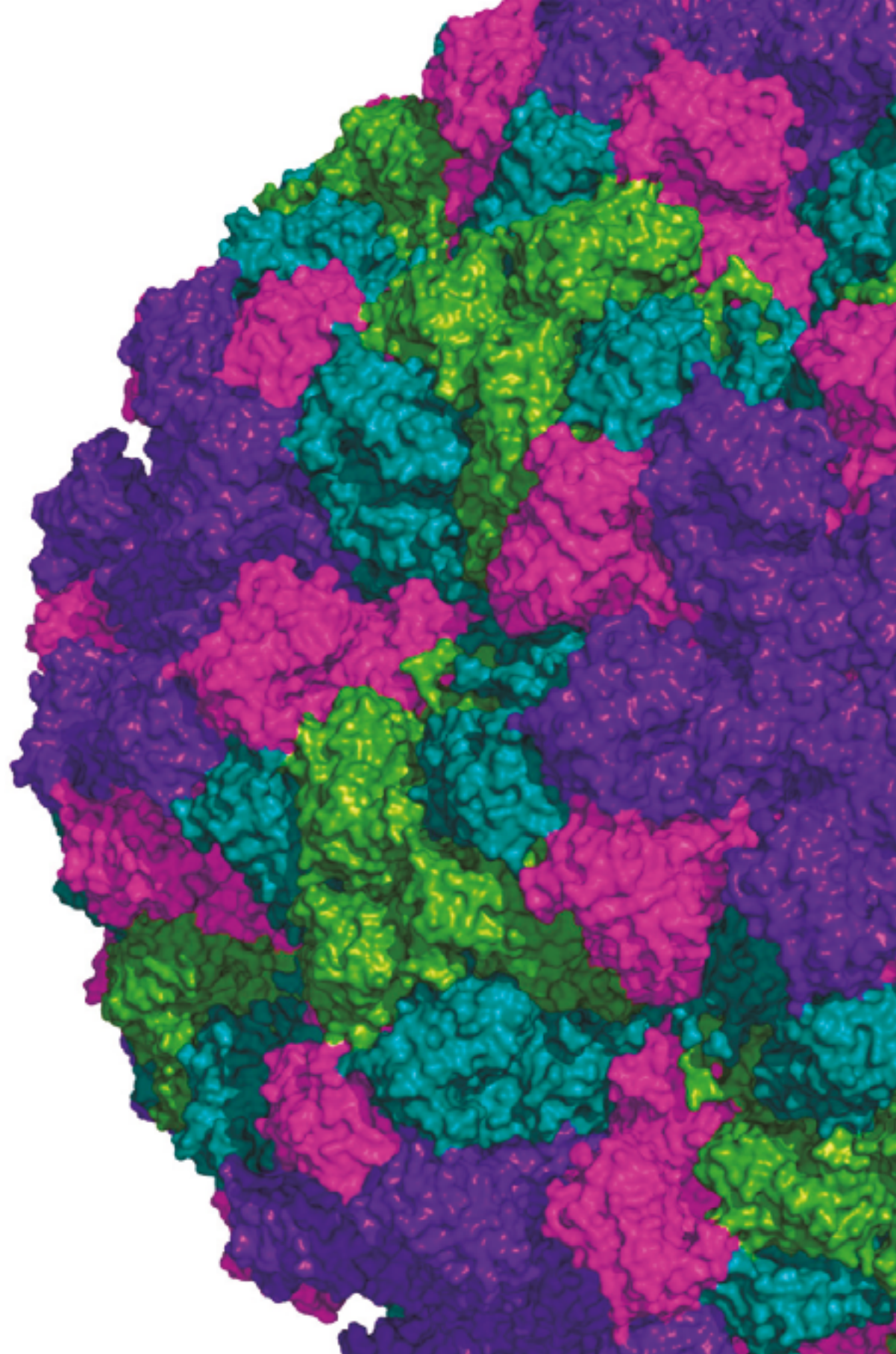
Figura 21. a. Principales grupos de virus de plantas (géneros y familias), agrupados según su genoma (ssDNA, dsDNA-RT, dsRNA y -ssRNA) y morfología de las partículas; b. Principales grupos de virus de plantas (géneros y familias), agrupados según su genoma (+ssRNA) y morfología de las partículas.

Basado en: King et al. 2012



{ 67 }

Figura 22. Esquema general de clasificación de virus utilizando el sistema informal de Baltimore. Se presentan las polimerasas que se emplean para la expresión de los genomas de los virus pertenecientes a cada uno de estos grupos. H: Hospedante; V: Viral.
Basado en: King et al. 2012



Estructura y genoma de los virus

En general, los virus tienen una cubierta de proteínas llamada cápside (CP) que sirve de protección para el genoma viral constituido por una o varias moléculas de DNA o RNA. En virus que afectan principalmente a los animales, es frecuente también encontrar una envoltura externa proveniente de las membranas plasmáticas o de los organelos de las células hospedantes y en cuyo exterior están inmersas proteínas virales de reconocimiento o unión. En este caso, los componentes internos de la partícula viral —que es habitual que estén separados de la envoltura externa por una matriz de proteínas— reciben el nombre de nucleocápside.

En los virus de vegetales, la envoltura externa es poco frecuente (solo reportada en tospovirus y rhabdovirus), dada la presencia de una fuerte pared celular en las plantas que impide la liberación de los virus por exocitosis o lisis celular. Además, algunos virus presentan otras proteínas asociadas a la nucleocápside o a la matriz (como replicasas, integrasas, proteasas, fosfatasa) que son esenciales para dar inicio a la infección viral. Las partículas virales maduras, es decir, aquellas provistas de todos sus componentes estructurales y, por tanto, con capacidad infectiva, reciben el nombre de viriones.

Los virus presentan al menos seis formas estructurales que pueden o no estar rodeadas por una envoltura externa de origen celular: isométrica (o icosaédrica), helicoidal rígida o flexuosa (también llamada filamentosa o con forma de varilla), bacilar, esférica, pleomórfica y compleja (figura 23).

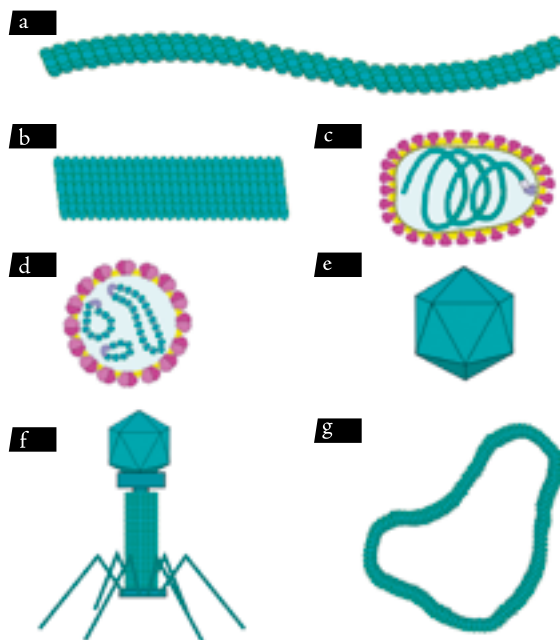


Figura 23. Morfología de partículas virales. a. Varilla flexuosa (helicoidal); b. Varilla rígida (helicoidal); c. Bacilar (con envoltura externa); d. Esférica o circular (con envoltura externa); e. Isométrica (icosaédrica); f. Compleja (bacteriófago); g. Pleomórfica.
Fuente: autores

Una visión general de las características morfológicas que presentan los virus de plantas indica que de 81 géneros virales que afectan vegetales 64 son isométricos, 17 helicoidales, 3 bacilares (rhabdovirus, badnavirus, alfamovirus), uno pleomórfico (tenuivirus) y uno sin cápside (endornavirus), además de los dos grupos ya mencionados provistos de envoltura externa (tospovirus y rhabdovirus).

La cápside está formada por uno o varios tipos de proteínas llamadas protómeros (o simplemente proteínas de cápside) que son codificadas por el genoma viral y tienen un tamaño de entre 150 y 400 aminoácidos. Estas proteínas interactúan directamente con el entorno físico y biológico al interior y exterior de sus hospedantes y

por esa razón presentan variaciones de secuencia que permiten diferenciar a los virus entre especies y en algunos casos entre cepas, al mismo tiempo que sirven para la reconstrucción de historias evolutivas.

Por lo anterior, las comparaciones de secuencias del gen *cp* son fundamentales para la definición taxonómica de las especies de virus y para el desarrollo de herramientas de diagnóstico e identificación viral. Además de las regiones variables, las subunidades de la cápside también presentan regiones conservadas que son responsables del ensamblaje del virión y de la interacción con los ácidos nucleicos; desde el punto de vista taxonómico son utilizadas en la definición de *taxa* virales supraespecíficos (figura 24).

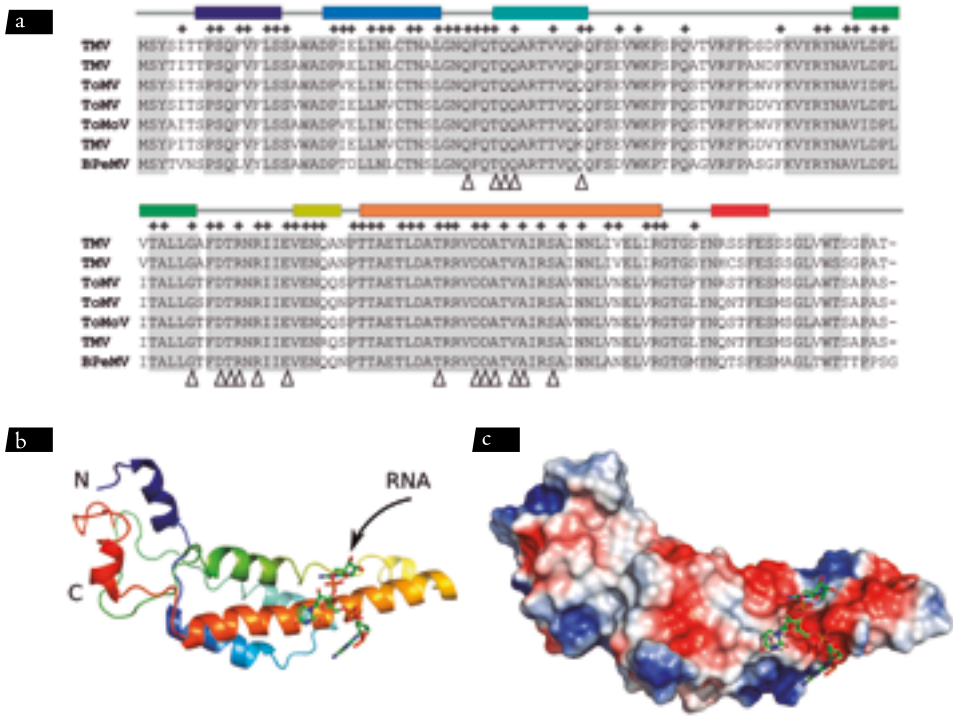


Figura 24. a. Alineamiento de secuencias de aminoácidos de la cápside de diferentes tobamovirus: *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Tomato mosaic virus* (ToMV), *Bell pepper mottle virus* (BPMV) (especie propuesta). Se indica la posición de las hélices α . El código de colores corresponde a la estructura que se presenta en b. Los rombos sobre el alineamiento marcan los aminoácidos que participan en el ensamblaje de las proteínas de cápside. Los triángulos en la parte inferior señalan los aminoácidos más conservados que interactúan con el RNA; b. Diagrama esquemático de la estructura tridimensional de una subunidad de cápside unido a su RNA genómico; c. Superficie molecular de la subunidad de cápside mostrada en b. Los colores indican las cargas: rojo: -, azul: +. Las estructuras corresponden al código del Protein Data Bank 2J06.

Fuente: autores

Las partículas virales tienen tamaños variables en el orden de nm (1×10^{-9} m); para el caso de los virus isométricos de plantas, sus dimensiones oscilan entre 17-20 y 60-80 nm de diámetro, mientras que las varillas rígidas tienen 15-18 por 200-400 nm (AxL) y las flexuosas 12-15 por 400-2.200. La mayor parte de virus de animales tienen tamaños entre 50 y 150 nm

con casos extremos, como los parvovirus y los poliovirus con 20-25 nm de diámetro, y los poxvirus y mimivirus (virus de amebas), que pueden alcanzar diámetros hasta de 250 nm a 400 nm; es decir, pueden presentar tamaños similares al de algunas bacterias pequeñas como los micoplasmas (bacterias sin pared celular) y algunas rickettsias.

Arquitectura isométrica (icosaédrica)

Desde los estudios pioneros de microscopía electrónica realizados en la década de 1960, fue evidente la existencia de muchos virus con estructura icosaédrica (figura 25). En su organización más simple, esta estructura se caracteriza por presentar 20 caras triangulares conformadas por 3 subunidades de proteínas para un total de 60 capsómeros. Cápsides de mayor complejidad puede surgir a partir de este arreglo básico al aumentar el número de capsómeros y subunidades en múltiplos de 60.

Los virus isométricos se pueden clasificar con el número de triangulación (τ) que está relacionado con el total de proteínas en la unidad asimétrica de la cápside (figura 26). En los virus de plantas, es frecuente encontrar cápsides icosaédricas $\tau = 1$ (*Nanovirus*, virus satélites como *Tobacco necrosis virus* - TNV) (figura 27) y $\tau = 3$ (*Bromoviridae*, *Sobemovirus*, *Carmovirus*, *Tombusviridae*, *Tymovirus*) (figura 28), aunque se presentan algunas variaciones como en el caso de los comovirus que, a pesar de formar cápsides

$\tau = 1$ verdaderas, presentan dos tipos de subunidades (pequeña y grande) y, por tanto, su estructura consiste de trímeros, pentámeros y hexámeros, denominados como pseudo $\tau = 3$ o $P = 3$.

Una excepción por su gran tamaño de 50 nm, lo constituyen los viriones del *Cauliflower mosaic virus* (caMV), que tienen cápsides con valor $\tau = 7$, para lo cual sintetizan diferentes subunidades polipeptídicas a partir de una proteína precursora de 58 kDa. Otra variación la presentan los geminivirus, pues comprenden dos partículas isométricas $\tau = 1$ fusionadas, cada una carente de un pentámero. Este arreglo, y otros como la presencia de dos o más partículas separadas que contienen diferentes ácidos nucleicos (virus multipartículas o multicomponentes), permiten a los virus con mayores genomas alojar la totalidad de sus ácidos nucleicos, dadas las restricciones de espacio interior que presentan las partículas isométricas con bajos valores de triangulación.

{ 71 }

FOTOS: Francisco Morales

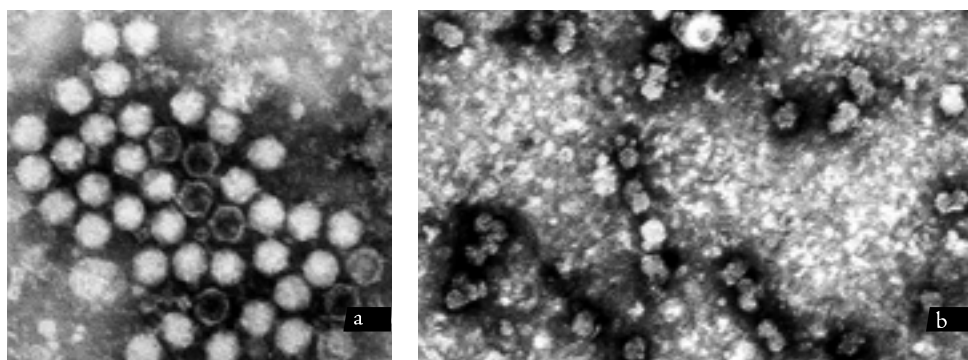


Figura 25. a. Partículas isométricas de un comovirus (30 nm de diámetro); b. Partículas isométricas geminadas de un begomovirus (22 nm x 38 nm AxL).

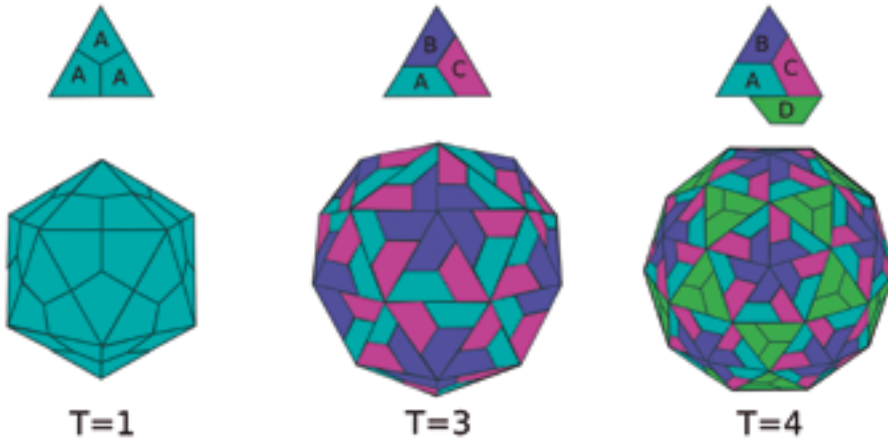


Figura 26. Diagramas esquemáticos de la estructura de virus icosaédricos con diferentes números de triangulación. Los virus $\tau = 1$ tiene como unidad mínima de ensamblaje una sola proteína (A) que interactúa con dos proteínas idénticas para formar cada cara del icosaedro. En los virus $\tau = 3$ y $\tau = 4$ la subunidad mínima de ensamblaje requiere tres (A, B y C) y cuatro (A, B, C y D) proteínas de cápside, respectivamente.

Fuente: autores

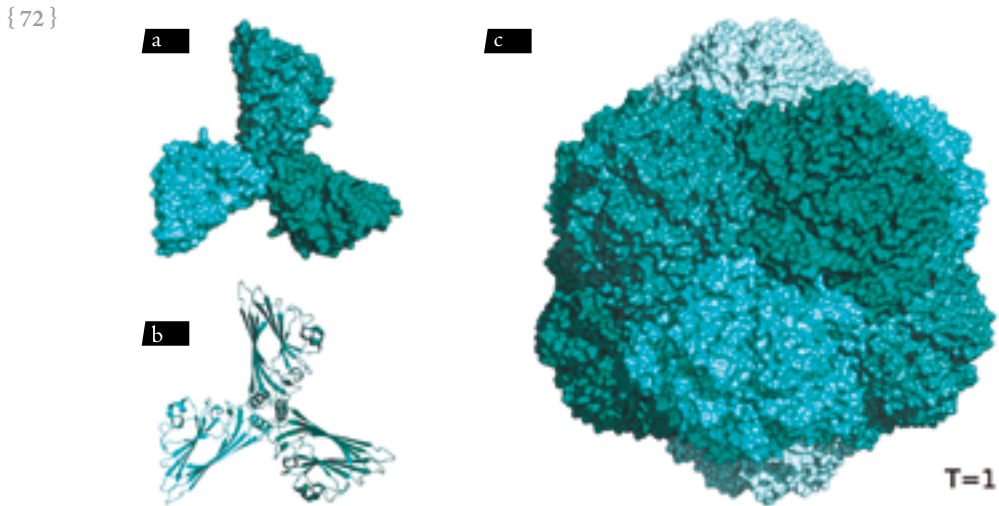


Figura 27. Estructura de cápside $\tau = 1$ del *Tobacco necrosis satellite*. En (a) y (b) se ilustran las tres proteínas que conforman cada cara del icosaedro; se utiliza una representación de superficie y otra de estructura secundaria, respectivamente. En (c) se muestra la estructura completa de la cápside. Las estructuras mostradas corresponden al código del Protein Data Bank 2BVK.

Fuente: autores

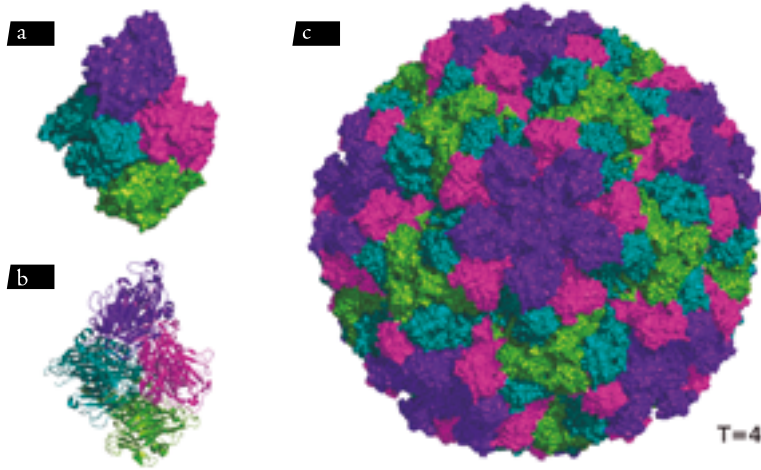


Figura 28. Estructura de cápside $T = 3$ del *Tobacco necrosis virus* (TNV). En (a) y (b) se ilustran las tres proteínas que conforman la unidad mínima de ensamblaje del virus con una representación de superficie y otra de estructura secundaria, respectivamente. En (c) se muestra la estructura completa de la cápside. Las estructuras mostradas corresponden al código del Protein Data Bank 1c8N.

Fuente: autores

Arquitectura helicoidal

Esta estructura corresponde al arreglo de subunidades del mismo tipo en simetría rotacional alrededor de un eje central, similar a una escalera en espiral, y en cuyo centro se ubica el ácido nucleico. El virus helicoidal mejor estudiado es TMV con 300 nm de longitud, $16^{1/3}$ de subunidades por vuelta y un paso de hélice (*pitch*) de 2,3 nm, para un total de 2.100 subunidades en su cápside, distribuidas en 130 vueltas. El TMV tiene un diámetro de 17 nm con un canal central de 4 nm, ocupado por el genoma de +ssRNA, que se une con los aminoácidos internos de cada subunidad, principalmente a través de interacciones electrostáticas entre los residuos de arginina y los grupos fosfatos del RNA; puentes de hidrógeno entre el grupo 2'-hydroxyl de la ribosa e interacciones hidrofóbicas (figura 29).

Los virus helicoidales pueden presentar diferencias de flexibilidad que dan origen a su denominación como varillas rígidas o flexuosas, y pueden también presentar su genoma segmentado en varias partículas. Otros virus de plantas con simetría helicoidal

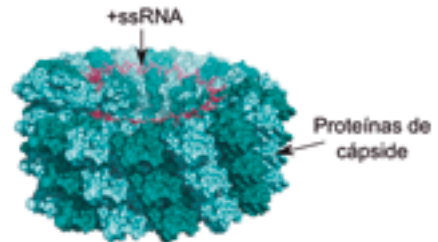


Figura 29. Modelo de la estructura interna de una porción de la cápside del *Tobacco mosaic virus* (TMV), cuya morfología es helicoidal (varilla rígida). Se puede observar el arreglo en espiral del genoma de +ssRNA y la constitución de la cápside a partir de múltiples protómeros globulares del mismo tipo.

Fuente: autores

incluyen los miembros de los géneros *Tobravirus* (varilla rígida, bipartícula), *Hordeivirus* (varilla rígida, tripartícula), *Furovirus* (varilla rígida, bipartícula), *Potexvirus* (varilla flexuosa, monopartícula), *Carlavirus* (varilla flexuosa, monopartícula), *Potyvirus* (varilla flexuosa, monopartícula) (figura 30), *Bymovirus* (varilla flexuosa, bipartícula) y *Closterovirus* (varilla flexuosa, monopartícula).

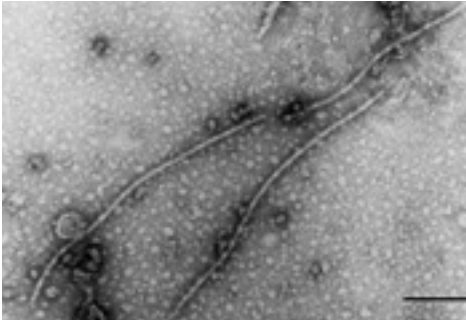


Figura 30. Partículas helicoidales flexuosas de un potyvirus (~12 nm x 750 nm - AXI).

Arquitectura bacilar

Esta morfología viral se caracteriza por presentar una apariencia similar a los bacilos procarióticos. Para el caso del *Alfalfa mosaic virus* (AMV), la forma se origina a partir de una porción tubular de arreglos hexagonales, con una paso de vuelta de 10 nm y 3,45 unidades hexaméricas por vuelta, y termina en una estructura similar a la mitad de un icosaedro $T = 1$. En los rhabdovirus, la forma bacilar se origina en una matriz proteica que recubre la nucleocápside (complejo del -ssRNA y de subunidades de proteínas CP), que se encuentra, a su vez, rodeada por una envoltura externa proveniente del hospedante durante el proceso de liberación del virus (figura 31).

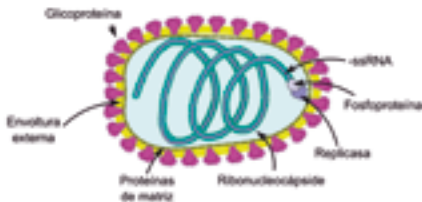


Figura 31. Morfología de la partícula viral de un nucleorhabdovirus de plantas (75 nm x 180 nm - AXI). Los viriones presentan genoma de -ssRNA y dos proteínas preformadas: una replicasa viral y una fosfoproteína, ambas requeridas para dar inicio a la replicación del virus al ingresar en las células hospedantes.

Fuente: autores

Arquitectura compleja

Esta denominación reúne virus con modificaciones estructurales que no permiten clasificarlos en las formas antes mencionadas. Este es el caso de algunos virus con envoltura externa, bacteriófagos y otros que presentan varias capas internas de proteínas y lípidos, como los poxvirus animales (*Vaccinia virus*), baculovirus de invertebrados y mimivirus de amebas. Algunos bacteriófagos son incluso más complejos (por ejemplo, fagos T2, T4 y T6 de *E. coli*), pues sus partículas presentan tres partes: cabeza, collar y cola. La primera se asemeja a un icosaedro irregular donde está contenido su DNA, mientras que la cola consiste en un tubo hueco central rodeado por una vaina helicoidal de glicoproteínas y una placa basal sobre la que descansan diferentes fibras y ganchos del tallo, responsables de la unión del virus con la superficie de la pared bacterial. El collar comunica la cabeza con la cola del fago (figura 32).

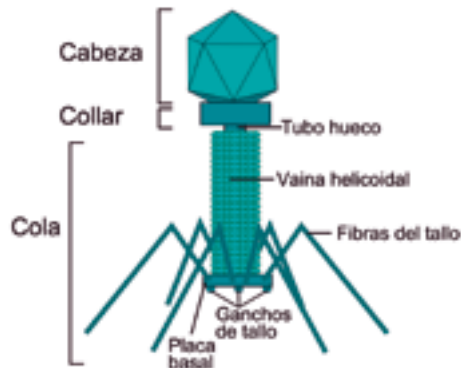


Figura 32. Morfología compleja de un bacteriófago con sus componentes principales: cabeza, collar y cola.

Fuente: autores

Para el caso de los virus con envoltura externa, esta consiste de una membrana bilipídica obtenida durante el proceso de extrusión (gemación, exocitosis) de la célula hospedante o de organelos como el aparato de Golgi, retículo endoplasmático (RE) o núcleo, que es enriquecida con proteínas de origen

viral, fundamentales para el reconocimiento por proteínas receptoras en las células hospedantes. En su interior, tienen proteínas de la matriz que dan soporte y estructura al virión y que rodean a la nucleocápside; esta última puede presentar simetría helicoidal, icosaédrica o amorfa.

También es posible encontrar otros tipos de proteínas encargadas de estabilizar la estructura de la nucleocápside a partir de la acción de dominios transmembranales

ubicados entre la matriz y la envoltura externa. Tal como se ha indicado, esta arquitectura es la excepción para el caso de los virus de plantas, aparentemente como resultado de la restricción que representa la pared celular vegetal para la liberación de los mismos, aunque, con seguridad, este no es el único factor que influyó sobre el proceso selectivo, pues muchos virus procariotas (también provistos de pared) poseen envolturas externas (por ejemplo, *Cystoviridae*, *Lipothrixviridae*, *Plasmaviridae*, etc.).

Arquitectura pleomórfica

FOTOS: Francisco Morales

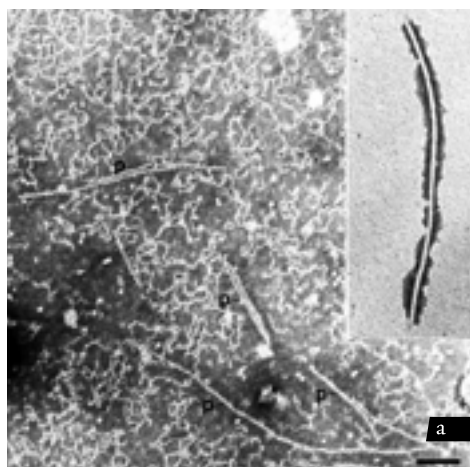


Figura 33. a. Microscopía electrónica; b. Diagrama de partículas pleomórficas filamentosas del *Rice hoja blanca virus* (RHBV). Fuente: autores

Algunos virus de plantas (como tenuivirus) sin envoltura externa presentan una estructura filamentososa y muy delgada (3 a 10 nm de diámetro) que puede tomar diferentes formas como espirales, partículas ramificadas, circulares o pseudocirculares. A tal morfología se le denomina pleomórfica o amorfa (en este libro se prefiere el primer término). Estos virus consisten en nucleocápsides compactas que generalmente están asociadas con replicasas virales preformadas (figura 33).

{ 75 }



Genomas virales

A diferencia del genoma de las células, constituido por DNA de doble cadena circular (procariotes) o lineal (eucariotes), los virus pueden tener RNA o DNA como material genético que, a su vez, puede ser de cadena sencilla (ss, *single-stranded*), cadena doble (ds, *double-stranded*) y de tipo lineal, circular o segmentado (con rupturas dentro de sus hebras). Los genomas de cadena sencilla pueden ser positivos (+ss), cuando la secuencia de nucleótidos tiene la misma polaridad que el mRNA, o negativos (-ss), si corresponden al

reverso complementario del mRNA. Algunos virus pueden además presentar genomas ambisentidos (+/-), es decir, presentar diferentes polaridades para sus ORF. En los virus con +ssRNA, el genoma actúa como reservorio de la información genética y como transcrito primario para uno o varios de sus ORF; en este caso, el RNA lo replica una polimerasa de RNA sin necesidad de intermediarios de DNA, lo que claramente los diferencia de los retrovirus (+ssRNA-RT).

La mayoría de los virus de plantas tienen genomas de RNA (74,5%) con prevalencia del +ssRNA (65,3%) sobre -ssRNA (4,6%) y dsRNA (4,6%). El porcentaje restante de genomas virales vegetales comprende el ssDNA (19,1%) y el dsDNA (6,4%). Estos últimos, por requerir un paso adicional de retrotranscripción (RT) para su proceso replicativo, se conocen como pararetrovirus y su genoma es identificado como dsDNA (RT). Lo anterior contrasta con los virus de animales vertebrados en los que, aproximadamente el 60%, tienen genomas de RNA y el 40% de DNA.

En invertebrados, algas, hongos y procariotes predominan los virus con genomas de DNA (principalmente dsDNA), y los de RNA en su mayor parte son de doble cadena. Hasta el momento no se ha reportado ningún virus de -ssRNA en tales hospedantes. En la tabla 5 se presenta una comparación porcentual de los genomas de virus que infectan diferentes grupos de seres vivos.

Con respecto al tamaño del genoma, la mayoría de los virus se encuentran en el rango comprendido entre 5 y 50 kb (kilobases). Sin embargo, existen algunas excepciones notables como el *Hepatitis delta virus* (ssRNA) y *Porcine circovirus* (ssDNA) con solo 1,5

y 1,7 kb y los mimivirus (dsDNA) que puede superar el millón de pares de bases (1-1,2 Mpb). Los virus de RNA, con un tamaño máximo entre 33-35 kb, son generalmente más pequeños que los de DNA. Para el caso de los virus de plantas, la mayoría tiene un tamaño de genoma entre 2,5 kb y 12 kb, con notables excepciones como los closterovirus (+ssRNA) que pueden tener genomas de hasta ~20 kb y los fijivirus con ~29 kb.

Características de los genomas virales

Los genomas de los virus incluyen regiones codificantes y no codificantes. Las primeras contienen la información genética necesaria para la expresión de proteínas requeridas en la replicación del virus, la protección del genoma, su movimiento a otras células, su transmisión por vectores, la supresión de mecanismos de defensa y otras más específicas, relacionadas con la regulación de los procesos genéticos propios y de aquellos de su hospedante.

Las regiones no codificantes generalmente se presentan en los extremos 5' y 3' del genoma viral y en posiciones intergénicas, aunque pueden estar traslapadas con regiones codificantes (figura 34).

Tabla 5. Participación porcentual con base en el tipo de genoma de virus que infectan diferentes grupos de seres vivos, incluso plantas

Genoma	Plantas	Vertebrados	Invertebrados	Procariotes	Algas y hongos
dsDNA	0 (0%)	263 (28,4%)	150 (60,7%)	203 (62,5%)	127 (67,9%)
dsDNA (RT)	66 (6,4%)	62 (6,7%)	24 (9,7%)	0 (0%)	13 (7%)
ssDNA	198 (19,1%)	66 (7,1%)	27 (10,9%)	92 (28,3%)	0 (0%)
dsRNA	48 (6,6%)	75 (8,1%)	38 (15,4%)	24 (7,4%)	33 (17,6%)
-ssRNA	48 (4,6%)	227 (24,5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
+ssRNA	677 (65,3%)	234 (25,2%)	8 (3,2%)	6 (1,8%)	14 (7,5%)
Total	1.037	927	247	325	187

Fuente: Hull 2009



Figura 34. Organización del genoma de +ssRNA (8.747 nt) del *Citrus leaf blotch virus* (CLBV), con la indicación de la ubicación de sus ORF y los productos de su expresión. Mtr: Metiltransferasa; P-Pro: proteasa tipo papaína; Hel: helicasa; rdp: polimerasa de RNA dependiente de RNA; MP: proteína de movimiento; CP: proteína de la cápside. En la región intergénica ORF2-ORF3 y en las regiones terminales se presentan secuencias no codificantes y putativamente regulatorias (líneas). La región 5' del genoma está protegida por una caperuza de metil-guanosina y en el extremo 3' se presenta una cola de poliadenina.

Fuente: autores

Se ha estimado que la misma secuencia de nucleótidos de una porción del genoma viral tiene potencial para codificar hasta 12 polipéptidos diferentes: tres ORF para cada una de las dos cadenas (+ y -), dependiendo de la primera posición de lectura (+1, +2 o +3) del codón de inicio (usualmente AUG) y de la ocurrencia de mecanismos de lectura continua (*readthrough*) o cambio en el marco de lectura (*frameshift*).

Las proteínas virales también pueden tener múltiples funciones biológicas; así, por ejemplo, la cápside de algunos virus, además de proteger el genoma, actúa en la interacción con el vector y en los procesos replicativos y de supresión de las defensas antivirales del hospedante. Estas situaciones son un indicativo de la complejidad de los mecanismos genéticos de los virus y explican la gran dificultad que se presenta para su estudio y para el manejo de las enfermedades que ellos causan. La ocurrencia de mutaciones en los genomas virales no solo representa el cambio putativo en una proteína sino potencialmente en varias de ellas, lo que afecta aspectos tan diversos como el rango de hospedantes, el reconocimiento de anticuerpos para su detección o el nivel de virulencia del patógeno.

Proteínas virales

Los genomas virales pueden codificar para entre dos y cien proteínas funcionales; sin embargo, los virus de plantas presentan por lo común entre cuatro y siete proteínas, y son los closterovirus la excepción con cerca de doce. Estas proteínas se pueden clasificar como estructurales, enzimáticas, de movimiento

intercelular, de transmisión por vectores, de reconocimiento inicial y de supresión de mecanismos de defensa, entre otras.

Las proteínas estructurales, como se indicó, son las que conforman la cápside viral y pueden corresponder a más de un tipo (por ejemplo, cápside mayor y menor). Para los virus con envoltura externa se pueden presentar proteínas de matriz, nucleoproteínas y proteínas inmersas en la membrana que brindan estabilidad a la partícula o cumplen funciones de reconocimiento de las células del hospedante.

{ 77 }

La enzimas virales encargadas de la replicación y síntesis de RNA subgenómicos (sgrna) reciben el nombre de polimerasas o, preferiblemente, en virología, replicasas. Las replicasas que utilizan RNA como molde y sintetizan RNA se conocen como rdp (*RNA-dependent RNA polymerase*); mientras que aquellas que utilizan RNA como molde y sintetizan DNA (rdp - *RNA-dependent DNA polymerase*) reciben el nombre de reverso transcriptasas (RT). Los virus de dsDNA y ssDNA pueden utilizar las DNA polimerasas del hospedante para su replicación y transcripción, pero bajo la dirección de proteínas codificadas por el genoma que modula dicha actividad (por ejemplo, proteínas Rep).

Las proteínas de movimiento permiten que los virus de plantas se desplacen de célula a célula, por lo general en forma desnuda (solo el ácido nucleico), a través de los plasmodesmos que conectan células vegetales adyacentes. Se ha encontrado que este proceso

puede estar regulado por entre una y tres proteínas (por ejemplo, *Triple Gene Block* – TGB) que interactúan con los componentes del citoesqueleto y facilitan el movimiento por los canales internos de los plasmodesmos. Como es habitual que dichos canales sean demasiado pequeños para permitir el paso de partículas virales completas, se cree que el efecto de las proteínas de movimiento viral (posiblemente en cooperación con proteínas del hospedante) consiste en ensancharlos de tal manera que el virus completo o su genoma se pueda mover a las células anexas para dar comienzo a un nuevo ciclo infectivo y, por último, llegar a los haces vasculares (en especial el floema) con lo que se establecen infecciones sistémicas (figura 35).

Las proteasas son otro grupo importante de proteínas virales que permiten el procesamiento de poliproteínas de alto peso molecular en diferentes proteínas funcionales de tamaño menor. Por su parte, las proteínas de transmisión corresponden a polipéptidos codificados por el genoma viral que permiten la interacción de los virus con proteínas específicas de reconocimiento en las células de vectores invertebrados (insectos y ácaros), hongos, nematodos y protozoos, con lo que es posible que diferentes proteínas

estructurales, o parte de ellas, cumplan una función determinante durante dicha interacción.

Para el caso de los virus de animales, es frecuente la presencia en sus genomas de genes que codifican para proteínas de reconocimiento de receptores, ubicados en las membranas plasmáticas de las células de sus hospedantes. Esas proteínas definen el tropismo del virus (tipos de células susceptibles a su infección) y su mecanismo de ingreso al citoplasma celular (por ejemplo, endocitosis mediada por receptor, fusión de membranas).

En los virus de plantas, el ingreso por lo general no involucra las proteínas mencionadas atrás, aunque sí se ha reportado la ocurrencia de polipéptidos encargados del reconocimiento de receptores ubicados en los sistemas membranosos citoplasmáticos, que definen los sitios de replicación o ensamblaje de algunos virus. Para terminar, en los virus de plantas es frecuente encontrar proteínas encargadas de suprimir los sistemas de defensa a la infección viral de sus hospedantes, con esquemas de silenciamiento transcripcional (TGS, *transcriptional gene silencing*) o postranscripcional (PTGS), ambos discutidos en el capítulo IX.

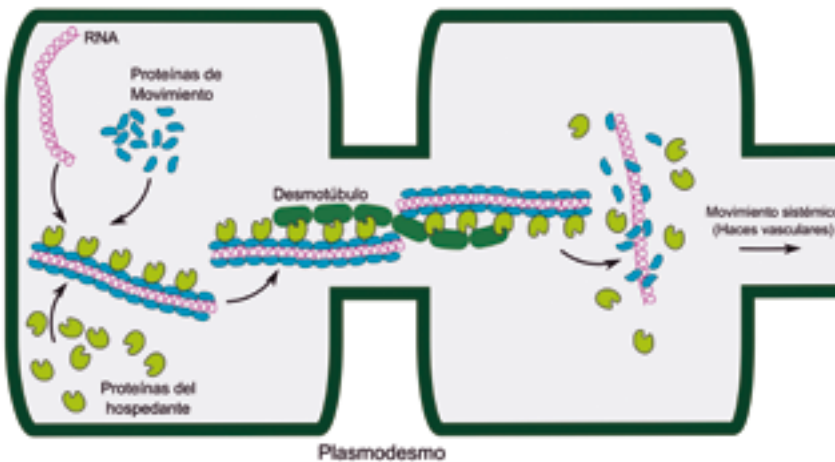


Figura 35. Movimiento de virus de plantas mediante los plasmodesmos que conectan células adyacentes. El virus se puede desplazar como partícula ensamblada o en forma desnuda (solo su genoma), con ayuda de proteínas de movimiento de origen viral y de proteínas putativas del hospedante.

Basada en: Hull 2014

Regiones no codificantes

Como ya se indicó, las regiones no codificantes (UTR, *untranslated regions*) de los genomas virales participan en el control y regulación de mecanismos como la traducción de proteínas y la replicación. Las UTR ubicadas en el extremo 5' casi siempre actúan en la regulación del inicio de la transcripción/traducción de los primeros ORF, mientras que las UTR internas regulan la iniciación de la transcripción/traducción de ORF centrales, así como en la generación de RNA subgenómicos. El extremo 3' es fundamental para el inicio de la síntesis de -ssRNA, que no solo se presenta en los virus que tienen dichos genomas, sino también como parte de los intermediarios replicativos (IR) de todos los virus de RNA. Es frecuente que en estas regiones no codificantes ocurran estructuras con

formas de lupas (*stem-loop*) o asas (*hairpins*) como resultado de la presencia de secuencias complementarias (figura 36).

Así mismo, se pueden presentar pseudonudos (*pseudo-knots*) por la asociación entre asas y secuencias cercanas o distantes en el genoma viral, lo que genera estructuras tridimensionales complejas (figura 37). Estas configuraciones espaciales del genoma son fundamentales para su interacción con proteínas celulares y virales, y para la regulación de la expresión de su propio genoma o el de su hospedante.

Un aspecto fundamental de las regiones 5' y 3' de los genomas virales, especialmente de RNA, es la presencia de estructuras que asemejan las características de los mRNA de las células hospedantes. La estructura



{ 79 }

Figura 36. Estructuras secundarias en las regiones terminales UTR del genoma de un virus de +ssRNA. Es posible observar los diferentes tipos de lupas y asas, además de la presencia de una proteína viral de unión al genoma (vp_g) en el extremo 5' y de una cola de poliadenina en el 3'.

Fuente: ViralZone c2011

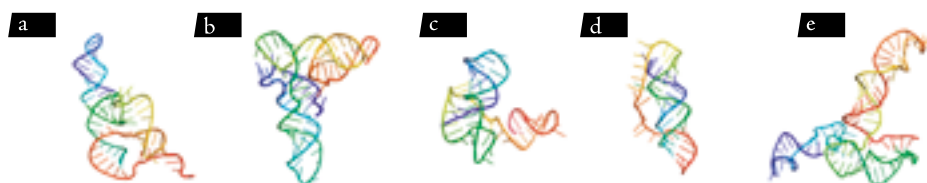


Figura 37. Estructuras secundarias complejas generadas por la interacción entre nucleótidos del genoma viral y cuyas funciones incluyen desde el reconocimiento por parte de los ribosomas del hospedante hasta la regulación de la expresión genética y la interacción con proteínas del hospedante. a. Estructura del dominio central de un IRES (*internal ribosome entry site*) que permite el inicio de la traducción en mRNA virales sin caperuza en su extremo 5'; b. Estructura similar a un tRNA frecuente en los extremos 3' de algunos virus de RNA; c. Estructura de una región del genoma de virus de RNA que regula la síntesis de sgrNA; d. Estructura de una región de un genoma retroviral que regula procesos traduccionales; e. Estructura de un potenciador traduccional (*enhancer*) ubicado en el extremo 3' de algunos virus de RNA. Las estructuras mostradas corresponden al código del Protein Data Bank 2BUK. Códigos del Protein Data Bank: a. (3T4B), b. (4P5J), c. (4PQV), d. (2LC8), e. (2KRL).

Fuente: autores

más frecuente en el extremo 5' es la caperuza de metil-guanosina (5'cap) con la secuencia m⁷G5N-ppp5Nxpyp..., donde x y y son dos bases anexas no metiladas (sí lo están en los mRNA celulares). Esta actividad la codifica el virus a partir de la acción de proteínas que metilan GTP al usar la S-adenosil-metionina como donante del grupo metilo y la Guanil transferasa que une dicho grupo a la posición 7 del GTP.

En otros virus, en lugar 5' cap, se presentan pequeñas proteínas de unión al extremo 5', conocidas como vpg (*virus protein genome-linked*) cuya función es principalmente participar en el inicio de la replicación del RNA viral. Dichas proteínas se unen al genoma a través de enlaces fosfodiéster entre el grupo OH de un residuo de serina o tirosina localizado en el extremo amino terminal de la vpg y una uridina del RNA (figura 38). Por otra parte, en el extremo 3' de los

genomas de virus de RNA es posible encontrar secuencias poliadeniladas (Poli-A), que simulan los mRNA de los eucariotes. Estas colas de Poli-A pueden variar en tamaño desde unas pocas bases hasta decenas de residuos de adenina.

También hay virus de RNA (ss y ds) cuyos extremos 3' tienen estructuras similares a tRNA que inhiben la acción de RNAsas celulares y regulan la replicación del genoma viral. En virus como los tospovirus y tenuivirus, los extremos 5' y 3' presentan secuencias complementarias que les permiten unirse y dar origen a estructuras pseudocirculares tipo *pan-handle*, fundamentales para la correcta replicación y ensamblaje final con las proteínas de la nucleocápside. Por último, algunos virus pueden no tener estructuras especiales en sus extremos genómicos 5' o 3', por lo que seguramente presentarán secuencias reguladoras UTR internas (figura 38).

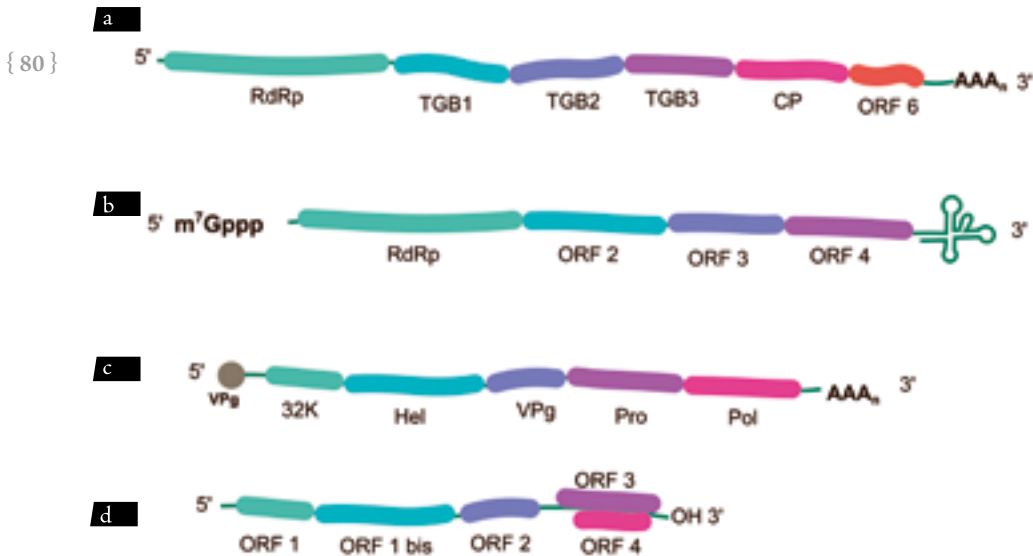
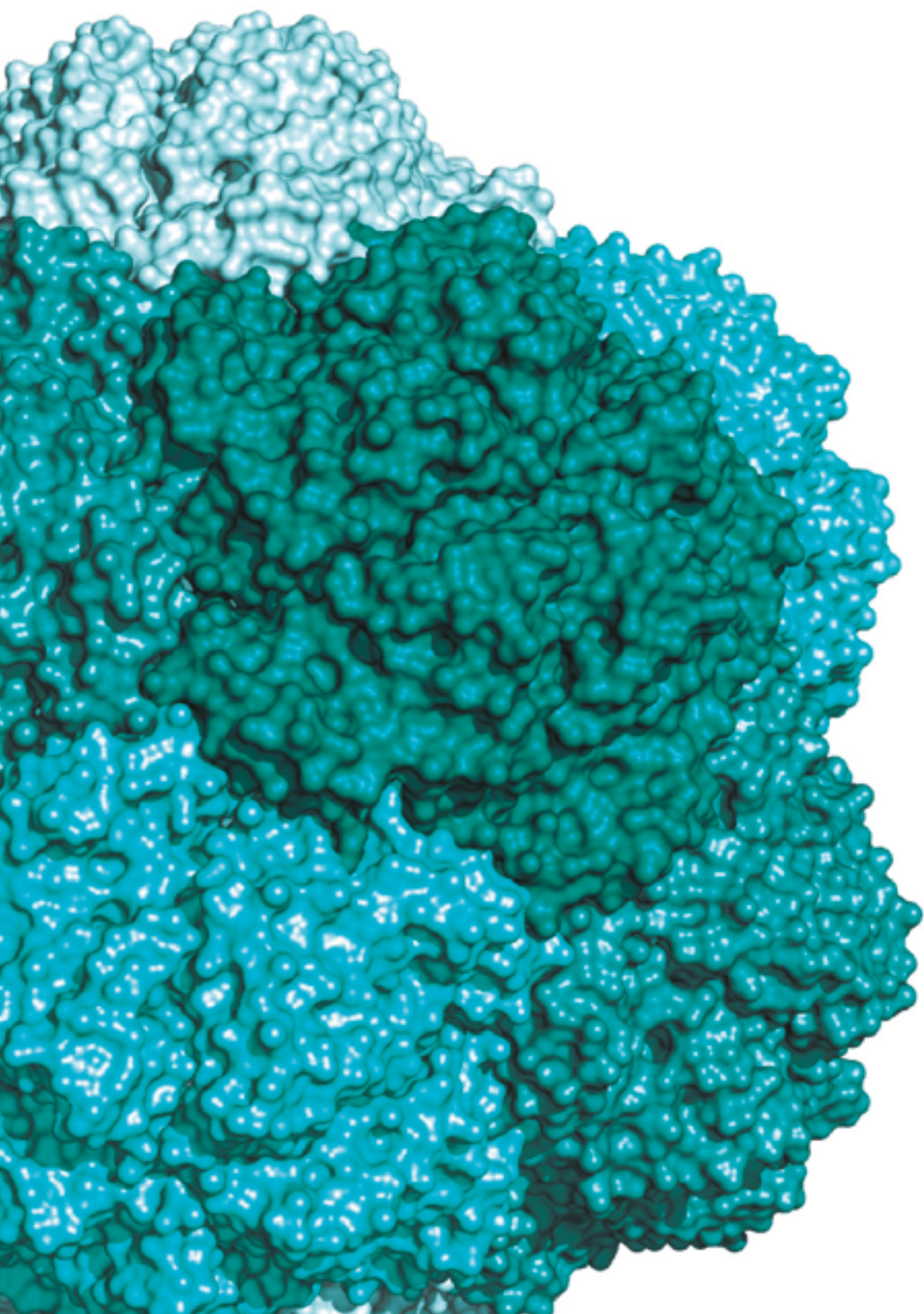


Figura 38. Algunas variaciones estructurales de los extremos 5' y 3' de genomas de virus de RNA. a. Genoma sin caperuza (m⁷G5'pppg) en el extremo 5' y con presencia de poli-A en 3'; b. Genoma con caperuza (m⁷G5'pppg) en el extremo 5' y estructura similar a tRNA en 3'; c. Genoma con una proteína vpg unida a su extremo 5' y poli-A en 3'; d. Genoma sin estructuras anexas en las regiones terminales. Los textos internos se refieren a los nombres de los ORF definidos para cada virus particular (32 K, Hel, etc.) o a su denominación genérica (por ejemplo, ORF 1).

Fuente: autores





Importancia económica de los virus de plantas

Dada la gran cantidad de variables que afectan la producción de las plantas, las diferencias en los agroecosistemas y en métodos de manejo entre países distintos, e incluso entre regiones de un mismo país, es difícil estimar el efecto económico de las enfermedades sobre los cultivos agrícolas. Sin embargo, diversos estudios, en conjunto con la experiencia de los agricultores, indican que las enfermedades son uno de los mayores limitantes para alcanzar la cantidad y calidad de alimentos, fibras y maderas que requiere la población mundial.

Con base en un estudio financiado por *The European Crop Protection Association*, Loebenstein (2008) concluyó que las enfermedades sobre los ocho principales cultivos del mundo por su valor comercial y extensión (arroz, trigo, cebada, maíz, papa, soya, algodón y café) causaron pérdidas entre el 10 % y 16 % del potencial productivo, lo que representó cerca de 840 billones de dólares para el período 1988-1990. A lo anterior se debe sumar por lo menos un 10 % adicional, representado por los daños en poscosecha, ocasionados por plagas, enfermedades y deficiencias en los sistemas de almacenamiento y transporte de los productos agrícolas.

FOTO: Jairo Castaño Zapata



Figura 39. Campo de arroz con síntomas de amarillamiento general, resultado de la infección por el *Rice grassy stunt virus* (RGSV) en el sudeste asiático. Se puede observar la similitud de los síntomas con los de deficiencias nutricionales (por ejemplo, de nitrógeno) en el cultivo.

Los hongos son, sin duda, el grupo de fitopatógenos más perjudicial para la producción agrícola al ser responsables de entre 40 % y 60 % del total de pérdidas en la agricultura mundial, debidas a enfermedades. En el caso de los virus, las pérdidas producidas por ellos se estiman entre 5 % y 15 %; sin embargo, tales valores se deben tomar con cuidado, ya que en muchos casos estos fitopatógenos causan infecciones asintomáticas que reducen gradualmente la producción, calidad y longevidad de las plantas y es frecuente que sus efectos se confundan con otros de origen biótico o abiótico (figura 39). Además, la transmisión de los virus por medio de semillas asexual o sexual disminuye el vigor de la progenie vegetal, lo cual tiene un impacto económico difícil de cuantificar en condiciones de campo.

La estimación de pérdidas se calcula a través de estudios controlados, realizados en un mismo lugar y época de siembra, en los que se comparan los rendimientos obtenidos en cultivos con diferentes niveles de incidencia viral y parcelas libres de virus, logradas mediante la siembra de material certificado, control de vectores y el establecimiento de prácticas culturales que reducen la transmisión por medios mecánicos (figura 40).

FOTO: Jairo Castaño Zapata



Figura 40. Parcelas de evaluación de diferentes variedades de arroz ante la infección de *Rice hoja blanca virus* (RHBV). Se puede observar la sintomatología definida en los materiales susceptibles utilizados como bordes de las parcelas experimentales.

No obstante, al realizar dichas comparaciones en los modelos de cuantificación de pérdidas, es necesario tener en cuenta el efecto de compensación, es decir, el incremento en la producción de plantas libres de virus, en proximidad de aquellas debilitadas o muertas por causa de la infección viral.

{ 84 }

Los virus pueden causar daños directos e indirectos sobre la producción agrícola; se destacan la reducción en los rendimientos y la pérdida de sitios de siembra por muerte o falta de desarrollo vegetal. Así mismo, las infecciones virales reducen el vigor de las plantas y las tornan más susceptibles a daños por factores ambientales extremos como heladas, inundaciones o excesos de temperatura, y al ataque de insectos plaga y de otros fitopatógenos (figura 41).

FOTO: autores



Figura 41. Deterioro generalizado de un cultivo de tamarillo, afectado por un complejo de virus en Colombia.

Desde el punto de vista de la calidad de los productos agrícolas, los virus afectan su coloración, forma, tamaño, textura, sabor, composición y, por lo tanto, su valor comercial (figura 42).

Entre los efectos indirectos de las enfermedades virales se destacan la imposibilidad de obtener material de propagación sexual o asexual a partir de las plantas infectadas y los costos asociados a las prácticas de manejo de insectos vectores e higiene del cultivo, como son el establecimiento de brigadas fitosanitarias para localización de focos de infección, la adquisición de material de siembra certificado y el tratamiento de sitios-foco de enfermedad. Además de estas situaciones deletéreas, las valoraciones de los efectos de las enfermedades virales sobre los cultivos deben incluir los recursos públicos y privados requeridos en los programas de mejoramiento genético vegetal, además de aquellos necesarios para la organización y ejecución de medidas



Figura 42. Efectos de infecciones virales sobre la calidad de dos frutos tropicales. a. Grabados y manchas anulares en la cáscara de frutos de papaya infectados por *Papaya ringspot virus* (PRSV); b. Grabados en la cáscara de frutos de granadilla, infectados por *Soybean mosaic virus* (SMV).

FOTOS: a. Francia Varón y b. Francisco Morales

cuarentenarias, campañas masivas de erradicación de hospedantes alternos y formación de asistentes técnicos, agricultores e investigadores en el manejo de dichas enfermedades.

Como se mencionó, es frecuente que los efectos que causan los virus y otros patógenos sobre la agricultura tropical y subtropical sean más relevantes que aquellos que ocurren en la región templada, dada la presencia de hospedantes cultivados y silvestres, así como de vectores virulíferos durante todo el año. Por otra parte, los problemas virales son más críticos en cultivos de propagación asexual como yuca, papa, caña de azúcar y cítricos, en comparación con los cultivos de propagación sexual, ya que las plantas poseen restricciones anatómicas y mecanismos de defensa que evitan la llegada de la mayoría de los virus a los tejidos seminales; así, se estima que solo entre el 10%-15% de los virus de plantas se transmiten por esta vía. Se presentan, además, grandes variaciones en la eficiencia de transmisión entre cepas virales, ciclos de cultivos, variedades vegetales y agroecosistemas.

Con respecto a los virus que ostentan mayor importancia económica en el mundo, la revista *Molecular Plant Pathology* en el año 2012 realizó una encuesta entre 250 virólogos vegetales, quienes consideraron que aquellos más relevantes para la agricultura son: *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Potato virus Y* (PVY), *African cassava mosaic virus* (ACMV) y *Plum pox virus* (PPV). También se destacaron por sus efectos económicos en algunas regiones del mundo el *Citrus tristeza virus* (CTV), *Barley yellow dwarf virus* (BYDV), *Potato leafroll virus* (PLRV) y *Tomato bushy stunt virus* (TBSV).

Desde el punto de vista científico por su uso como modelos de estudio biológico, la encuesta identificó, además de los virus anteriormente señalados, al *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Cauliflower mosaic virus* (CaMV), *Brome mosaic virus* (BMV) y *Potato virus X* (PVX).

Caracterización de virus con incidencia económica mundial

A continuación se realiza una breve descripción de las características de los virus mencionados y las enfermedades inducidas por ellos.

TSWV: es un miembro de la familia *Bunyaviridae*, género *Tospovirus*, que presenta tres segmentos de $\pm$ -ssRNA y envoltura externa. Fue registrado inicialmente en 1915 en Australia. Se transmite por trips, en especial por la especie *Frankliniella occidentalis*, cuya amplia distribución mundial condujo a su reemergencia en la década de 1980, con pérdidas que superan el billón de dólares anuales. Los factores clave que explican la importancia económica de este virus recaen en su amplio rango de hospedantes —más de 800 especies de plantas, entre las cuales están el tomate, la lechuga, el pimentón, el maní y el crisantemo—, la agresividad de su infección y la dificultad para el manejo de sus vectores (figura 43).

{ 85 }



FOTOS: Guillermo Ramírez

Figura 43. Síntomas causados por el *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) sobre frutos de pimentón de dos variedades diferentes.

TYLCV: es la causa una de las enfermedades más devastadoras del tomate en el mundo. Se trata de un virus monopartita de ssDNA perteneciente al género *Begomovirus* (familia *Geminiviridae*), transmitido por la mosca blanca *Bemisia tabaci*. Su rápida expansión desde la región del este del Mediterráneo a prácticamente todos los lugares donde se cultiva tomate en el mundo explica su importancia económica, más aún cuando su efecto puede conducir a la pérdida total de los cultivos en grandes extensiones. En 1990 se reportó por primera vez en EE. UU., donde causó reducciones del rendimiento cercanas al 20%, mientras que en Cuba, México, Guatemala y Brasil las pérdidas por la infección se han cuantificado en los últimos años en el rango del 30 al 100% (figura 44).

de cultivo, se ha estimado que puede causar reducciones en el rendimiento de 25 % a 50 % en tomate, 60 % en melón y hasta 80 % en pimentón. Se presume que la incidencia de este virus se incrementará en el futuro próximo, como resultado del calentamiento global que posibilita a los áfidos vectores mayores períodos para sobrevivir y reproducirse en las regiones templadas y en las zonas altas de los trópicos.

Por ser un virus que con frecuencia se encuentra en infecciones mixtas con otras especies virales, presenta relaciones sinérgicas que conducen al aumento de su efecto perjudicial, lo que es particularmente válido para las regiones tropicales. También, cuando se presenta en conjunto con un satélite de RNA necrogénico, las mermas pueden ser devastadoras, como lo sucedido en España e Italia, en donde se alcanzaron pérdidas del 80 % en grandes regiones cultivadoras de tomate.

FOTO: Javier Romero

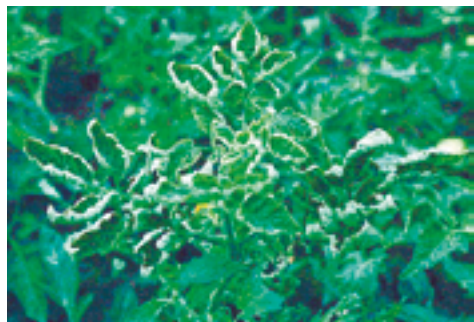


Figura 44. Síntomas de deformación severa de tejido foliar de plantas de tomate infectadas por *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV).

CMV: es la especie tipo del género *Cucumovirus* (familia *Bromoviridae*). Es un virus tripartita icosaédrico con genoma de +ssRNA. Causa mosaicos en gran cantidad de especies de plantas cultivadas y su rango de hospedantes incluye 1.200 especies de 100 familias vegetales diferentes (figura 45). Los áfidos se encargan de transmitirlo, de manera no persistente (no circulativa) y se estima que cerca de 80 especies de 33 géneros pueden actuar como sus vectores.

El cmv también puede ser transmitido por semilla sexual, aunque con gran nivel de variación en su eficiencia (~1 % a 50%). A pesar de que su efecto es difícil de cuantificar, en especial por las diferencias que presentan sus infecciones entre años y regiones



Figura 45. Síntomas de mosaico en a. *Cucurbita* sp. y de b. rayados localizados en banano, inducidos por *Cucumber mosaic virus* (CMV).

FOTOS: Jairo Castaño Zapata

FOTOS: Carlos Chuquillanqui



Figura 46. Síntomas de: a. Mosaicos; b. Necrosis de venas, inducidos por PVY en cultivos de papa de los Andes suramericanos.

PVY: es un virus flexuoso con +ssRNA del género *Potyvirus* (familia *Potyviridae*), de aproximadamente 9,7 kb. Lo transmiten más de 40 especies de áfidos de forma no persistente; *Myzus persicae* es el vector más eficiente. PVY infecta sobre todo plantas de la familia *Solanaceae* en todo el mundo; causa desde mosaicos suaves (PVY-O) hasta necrosis foliar (PVY-N) y de tubérculos (PVY-NTN). El tubérculo-semilla de papa transmite el virus de modo eficiente, por lo que obliga al establecimiento de costosos procesos de certificación de material de siembra. Además se presentan efectos directos sobre la producción y la calidad de tubérculos, al punto de provocar hasta el 30 % de pérdidas, en especial cuando aparecen variantes necróticas (figura 46). El PVY también causa enfermedades importantes en cultivos de tabaco, tomate, tamarillo y pimentón, en diferentes países del mundo.

ACMV EACMV (*African/East African cassava mosaic virus*): son geminivirus bipartitas, agentes causales del mosaico de la yuca. Esta enfermedad es la principal restricción fitosanitaria para dicho cultivo en África y Asia, y la causan al menos siete especies de virus en África y dos en India, con una alta capacidad de recombinación y de variabilidad genética. Para el año 2005 se estimó que los geminivirus de la yuca generaron pérdidas de entre 1900 y 2700 millones de dólares en África central y oriental. Se calcula que cada año un área equivalente a 60.000 ha, que producen unas 600.000 t de yuca, se pierde en el mundo por efecto del mosaico de la yuca. La enfermedad no se presenta en el sur ni en el centro de América, ni en el sudeste asiático, lo que en apariencia se debe a la imposibilidad para el establecimiento en dichas zonas de su vector *B. tabaci* biotipo B (figura 47).

{ 87 }

FOTOS: Alex Abaca



Figura 47. a. Síntomas de la enfermedad del mosaico de la yuca causada por un complejo de geminivirus que incluye *African cassava mosaic virus* (ACMV) y *East African cassava mosaic virus* (EACMV); b. Planta de yuca con un ataque severo de mosca blanca, el insecto vector de estos virus.

PPV: causa la *Sharka*, la enfermedad viral más limitante en el mundo de los huertos de frutales de hueso como durazneros, nectarines, damascos, ciruelos y almendros. El PPV afecta la calidad de los frutos que son indeseados en la mesa, y genera barreras cuarentenarias para su exportación (figura 48).



FOTO: Javier Romero

Figura 48. Síntomas de deformación, decoloración y manchado de frutos de cereza (enfermedad de Sharka) causados por *Plum pox virus* (PPV).

{ 88 }

Este virus es un miembro del género *Potyvirus*. Su enfermedad fue inicialmente reportada en Bulgaria entre los años 1915 y 1918; posteriormente se registró en la mayor parte de los países balcánicos, luego en Alemania y Rusia, y a partir de 1980 prácticamente a toda la cuenca del Mediterráneo. En la década de 1990, el PPV se registró en lugares tan distantes como Chile, India, EE. UU. y Canadá. Diferentes factores influyen para determinar la importancia económica de este virus, entre ellos su eficiente transmisión por numerosas especies de áfidos, la agresividad de sus síntomas —que pueden llevar a pérdidas hasta del 100% en variedades susceptibles—, la propagación vegetativa de sus hospedantes frutales y la ausencia de materiales resistentes estables y comercialmente atractivos. Los costos asociados al daño de la enfermedad de *Sharka* y a los esfuerzos mundiales por su control se han estimado en 10 billones de dólares para los últimos 30 años.

CTV: es el agente causal de la tristeza de los cítricos, la enfermedad viral más destructiva de estos cultivos en el mundo. Es un virus flexuoso monopartícula del género *Closterovirus* con genoma de +ssRNA. Existen registros históricos que indican que por efecto del CTV se perdieron cerca de 30 millones de árboles injertos en patrones de naranja agria *Citrus × aurantium* en Brasil y Argentina entre los años 1940 y 1960, mientras que 6,6 millones se perdieron en Venezuela en los años 1980 y 10 millones en Florida (EE. UU.), como resultado de la llegada y dispersión del áfido negro *Toxoptera citricida*, su vector principal. En España, Israel, California y otras regiones subtropicales, el virus es transmitido principalmente por *Aphis gossypii*.

Existen diferentes variantes de CTV que causan desde síntomas suaves hasta muy agresivos, que conducen al decaimiento de la producción y a la muerte de los árboles (figura 49).



FOTO: Javier Orduz Rodríguez y Heberth Velásquez

Figura 49. Síntomas de decaimiento inducidos por un complejo de virus que incluye al CTV en cítricos.

El manejo del CTV se fundamenta en una estricta certificación por sanidad viral tanto de los injertos como de los patrones. Eventualmente, se ha tenido éxito con programas de protección cruzada que utilizan variantes suaves de CTV en Brasil, donde la incidencia de las variantes más agresivas que causan *pitting* en tallos pudo ser disminuida en diferentes zonas. Se han realizado esfuerzos por erradicar o al menos reducir la tasa de dispersión

de las epidemias de CTV en regiones como California e Israel, con costos económicos inmensos, dada la realización de cientos de miles de pruebas de laboratorio (ELISA y microscopía electrónica) y la consecuente erradicación de aquellas plantas que resultaban positivas para la infección viral.

A continuación se tratan de forma conjunta otros virus de importancia económica en los trópicos y subtropicales, que actúan como complejos virales en cultivos de papa, batata y en plantas ornamentales.

Virus de papa

Se han reportado al menos 40 virus y viroides que afectan los cultivos de papa en el mundo, cuyo efecto puede superar el 50 % de pérdidas en rendimiento (figura 50). Entre los más limitantes

se destacan el antes mencionado PVY, además del PLRV, *Potato virus S* (PVS), *Potato virus M* (PVM), PVX, *Potato aucuba mosaic virus* (PAMV), *Potato mop-top virus* (PMTV) y el viroide *Potato spindle tuber viroid* (PSTVD).

Infortunadamente, en los países tropicales y subtropicales existe un desconocimiento generalizado de la diversidad de virus que afectan a los cultivos de papa, e incluso se pueden presentar especies hasta ahora no registradas. Así, por ejemplo, en un estudio realizado por Vásquez y colaboradores en 2006, en 30 lotes de cultivo de Costa Rica, y en los que se utilizaron pruebas de ELISA, se encontró la presencia de los siguientes virus: PVX (77 %), PAMV (62 %), PLRV (42 %), TRSV (42 %), PVT (39 %), PVV (37 %), PMTV (31 %), PVY (30 %), PVS (19 %), PVM (13 %), PVA (8 %), y APMOV (8 %); el *Andean potato latent mosaic virus* (APLV) fue el único no detectado con los anticuerpos disponibles en dicho estudio.

Vale la pena mencionar que todas las parcelas estuvieron infectadas con al menos dos de los virus analizados; hubo casos de hasta diez virus diferentes por parcela y un promedio general de cinco virus. Las infecciones mixtas en plantas individuales fueron muy frecuentes, con un promedio de cuatro especies de virus por planta, lo cual, sin duda, indica la necesidad de fortalecer las medidas sanitarias en la producción del país objeto y, seguramente, de los demás productores de papa latinoamericanos.

En tal sentido, entre 2010 y 2012, Gil y colaboradores realizaron diferentes estudios tendientes a evaluar los niveles de incidencia de los virus de papa más comúnmente reportados en Colombia. Encontraron que los potyvirus y el PVS fueron los de mayor registro (72 % y 40 %, respectivamente), mientras que el PLRV y PVX aparecieron en el 20 % y en el 8 % de las muestras evaluadas. También se confirmó mediante RT-PCR la presencia del PMTV y de variantes necrosantes de PVY en diferentes provincias del país (figura 51).

FOTO: Carlos Chuquillanqui



FOTO: Steen Lykke Nielsen



Figura 50. a. Síntomas de mosaico suave en papa causado por *Potato virus x* (PVX); b. Anillos necróticos causados por una cepa NTN del *Potato virus y* (PVY).



FOTOS: José Fernando Gil

Figura 51. Síntomas de complejos de enfermedades virales en cultivos de papa de Colombia. a. Amarillamiento de venas; b. Mosaico de tejido foliar; c. Verdeamiento de venas; d. Moreados foliares.

{ 90 }

PLRV es, quizás, el virus más limitante del cultivo de papa en el mundo, con pérdidas estimadas del 33 % al 50 %, que pueden ascender al 70 % cuando se presenta en conjunto con otros virus como PVX o PVY. Por esto, la certificación de tubérculo-semilla es un factor clave para la producción comercial de papa, para lo cual se utilizan cultivos de meristemos y, a partir de ellos, la inducción de minitubérculos. Los aumentos en los costos de producción por efecto de la semilla certificada de papa en el mundo se ven representados por el valor de una tonelada de la misma, que alcanza un precio promedio entre 350 a 500 dólares americanos, mientras que los tubérculos no certificados se comercializan en el mercado mundial entre 170 y 180 dólares.

Salazar (2006) indicó que la situación viral de los cultivos de papa en la región andina ha cambiado de modo sustancial en las últimas décadas gracias a la emergencia y reemergencia de diferentes especies

y variantes de virus como el PVY-N y PVY-NTN, y los recientemente reportados en Perú SB26/29 y SB41.

El SB26/29 es el primer virus de plantas registrado por su transmisión mediante un insecto psílido (*Russelliana solanicola*) (Hemiptera: Psyllidae), que causa mosaicos que pueden terminar con la defoliación de las plantas y la reducción severa de su crecimiento; su efecto sobre la producción puede variar entre 36 % y 80 %, dependiendo del cultivar. Por su parte, el SB41 causa mosaicos severos en las plantas y solo se ha transmitido a modo experimental por injerto; aún no se ha determinado la afinidad taxonómica de ambos virus.

Como virus reemergentes se destacan el Potato yellowing virus (PVY), el Potato yellow vein virus (PVV) y el Potato mop-top virus (PMTV). El primero es un miembro tentativo del género *Alfamovirus*, que causa amarillamiento sistémico en las plantas;

se transmite por áfidos en forma semipersistente —es decir, ingresan momentáneamente al intestino del vector— y por semilla asexual en cultivos del Perú.

El PVV, por su parte, es un crinivirus reportado primero en Colombia en los años 1940, pero que en la actualidad se ha dispersado por Venezuela, Ecuador y Perú. Lo transmite la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* y puede inducir pérdidas hasta del 50% en los rendimientos de papa (figura 52).

FOTO: autores



Figura 52. Síntomas de amarillamiento severo inducidos por *Potato yellow vein virus* (PVV) en cultivos de papa de la región andina.

Finalmente, el PMTV es un pomovirus cuya incidencia se viene incrementando a la par con su vector natural: el plasmodiofórico *Spongospora subterranea* f.sp. *subterranea*, agente causal de la sarna polvosa de la papa (figura 53), la enfermedad más limitante de este cultivo, después de la gota (*Phytophthora infestans*) que se presenta en diferentes países latinoamericanos.

Virus de batata

La batata (*Ipomoea batatas*) es el séptimo cultivo alimenticio del mundo con cerca de 9 millones de hectáreas cultivadas y un promedio de producción de 15 t/ha. Las comunidades de las llanuras de África oriental son las zonas que dependen en gran parte de su producción. También se cultiva en China, Japón, Corea, Tailandia y en algunos países suramericanos como Argentina y Perú.



Figura 53. a. Síntomas de mosaico tipo aucuba, causados por *Potato mop-top virus* (PMTV) en tejido foliar de papa; b. Síntomas de sarna polvosa en tubérculos causados por el vector de PMTV el plasmodiofórico *S. subterranea*.

A este cultivo lo afectan más de 20 virus que pueden reducir el rendimiento hasta en un 70% como resultado de los mosaicos severos, enanismos, reducción de las láminas foliares y deformación de tejidos. Se destaca la enfermedad denominada SPVD (*Sweet potato virus disease*), causada por la interacción entre *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV, Crinivirus) y *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV, Potyvirus) (figura 54). A la batata además la afectan infecciones conjuntas de SPCSV con los potyvirus *Sweet potato latent virus*, *Sweet potato mild speckling virus*; el ipomovirus *Sweet potato mild mottle virus* y el cucumovirus CMV, entre otros. Por lo anterior, son notables las diferencias obtenidas en los rendimientos en países donde el cultivo no tiene mayores controles para evitar la dispersión de los virus, como Uganda (4,3 t/ha) y Sierra Leona

FOTOS: Jorge Tenorio

FOTO: Jorge Tenorio



Figura 54. Síntomas de aclaramiento de venas y mosaico rugoso inducidos por *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV) en la planta indicadora *Ipomoea setosa*.

(2,6 t/ha), en comparación con los valores alcanzados en Israel y Japón, donde se superan las 20 t/ha, gracias a programas de certificación de material de propagación.

{ 92 } *Virus de ornamentales*

Las enfermedades virales son de gran importancia en los cultivos de plantas ornamentales, ya que en la mayoría de ocasiones son propagadas vegetativamente debido a los altos requerimientos de uniformidad genética en las variedades comerciales. Engelmann y Hamacher (2010) plantean como otros factores que aumentan el riesgo de las enfermedades virales en ornamentales los siguientes: (a) la introducción y el establecimiento de nuevos vectores de virus (como *Thrips palmi*, *Frankliniella occidentalis*, *Bemisia tabaci*) en las zonas de producción; (b) los cruzamientos continuos entre especies silvestres y domesticadas (híbridos), sin considerar la presencia en las primeras de virus no registrados; (c) la introducción de nuevos materiales exóticos en zonas fuera de su rango ecológico; (d) la utilización de sistemas cerrados de irrigación y fertilización; (e) el comercio internacional intensivo no solo de flores y follajes, sino de los materiales de propagación, y (f) las diferencias en los estándares fitosanitarios exigidos por los distintos países productores.



FOTOS: Gerardo Martínez

Figura 55. Síntomas causados por virus en diferentes plantas ornamentales. a. Virus no identificado en anturios (*Anthurium* sp.); b. Hojas de crisantemos con amarillamientos inducidos posiblemente por *Tomato aspermy virus* (TAV) (antes *Chrysanthemum aspermy virus*); c. Hojas de *Spathyphyllum* con síntomas de mosaico inducidos por un virus no identificado; d. síntomas de rayado en hojas de *Heliconia caribaea*, posiblemente causado por *Banana streak virus* (BSV).

Dado que la diversidad de especies y variedades ornamentales es amplia en extremo, existen diferencias entre los virus y los efectos que ellos causan entre regiones cultivadoras (figura 55). Sin embargo, virus como el TSWV, el *Impatiens necrotic spot virus* (INSV) o el CMV frecuentemente afectan gran cantidad de hospedantes ornamentales, mientras que especies como *Pelargonium flower break virus* (PFBV) y *Angelonia flower mottle virus* (AFMOV) presentan rangos de hospedantes más estrechos.

Para el caso de las dalias (*Dahlia*), un grupo de plantas ornamentales nativas de México y utilizadas como flores de corte, es notable la importancia económica del *Dahlia mosaic virus* (DMV) (*Caulimovirus*), un virus de dsDNA (RT) que induce síntomas cloróticos y enanismos en las plantas y se transmite por áfidos de manera no persistente. En estas especies vegetales, también se presentan el TSWV y el INSV, que provocan manchas anulares necróticas, con asiduidad concéntricas, y el CMV, que induce mosaicos suaves, típicamente acompañados de alargamiento de hojas.

En lo que respecta a los crisantemos, se destaca la presencia del *Chrysanthemum stunt viroid* (CSVd), que se registró primero en EE. UU. y llegó a Europa en la década de 1950. Su efecto principal se manifiesta en la reducción en el tamaño de las plantas y de sus láminas foliares, además de la ocurrencia de manchas blanquecinas en las hojas y flores (figura 56).

También es frecuente la presencia del *Tomato aspermy virus* (TAV) (antes denominado *Chrysanthemum aspermy virus*), así como del TSWV y de INSV, que causan manchas necróticas, grabados irregulares en las hojas y, en estados avanzados de infección, la muerte de los brotes. Finalmente, en estas plantas también se presenta el *Chrysanthemum virus B* (CVB), un carlavirus que causa moteados moderados y aclaramiento de venas en algunas variedades, aunque a menudo su efecto puede ser asintomático; dicho virus se transmite de modo mecánico y por áfidos de manera no persistente.

En las orquídeas se han reportado al menos 27 virus diferentes, pero sin duda los más limitantes para su producción comercial son el *Cymbidium mosaic virus* (CYMMV) y el *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV). El primero es un potexvirus de fácil transmisión mecánica que causa rayados o bandeados necróticos en hojas y necrosis en flores. Por su parte, el ORSV es un tobamovirus asociado con mosaicos en las flores, así como con la presencia de delgadas líneas necróticas en yemas y de bandeados y anillos cloróticos y necróticos en tejido foliar (figura 57). Este virus se transmite muy fácilmente por el uso de herramientas contaminadas. Resulta llamativo el hecho de que en orquídeas se reportan hasta nueve diferentes rhabdovirus y una gran variedad de potyvirus, incluso *Bean yellow mosaic virus* (BYMV), *Bean common mosaic virus* (BCMV) y *Cypripedium virus* γ (CYPVγ).

{ 93 }

FOTOS: Chen Fadi



Figura 56. Síntomas inducidos por el *Chrysanthemum stunt viroid* (CSVd) en plantas de crisantemo.



FOTOS: Paulina Germania Villena Ochoa

Figura 57. Síntomas causados en plantas de orquídea por *Cymbidium mosaic virus* (cymmv). a. Mosaico de pétalos; b. Clorosis foliar; c. Clorosis y manchas necróticas profundas por *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV); d. Bandeados necróticos; e. Bandeados cloróticos.







Ciclo infectivo, relaciones con hospedantes y vectores

En esta segunda parte realizamos un recorrido por las principales características del proceso infectivo de los virus en las plantas. Se incluyen los síntomas que inducen, los mecanismos de transmisión vertical y horizontal, las estrategias de expresión de los genomas más relevantes para los virus de plantas, los mecanismos de replicación y las enzimas que participan en ellos. Por último, se revisan las principales rutas de defensa de las plantas ante la infección viral y los fundamentos para el manejo de estas enfermedades en la producción agrícola.

Capítulo VI

Síntomas causados por virus en plantas

En el capítulo anterior se enfatizó en que los virus generan un gran impacto económico sobre la agricultura mundial como resultado de los múltiples efectos que inducen sobre las plantas que infectan. Esas secuelas pueden ocasionar reducciones en el rendimiento de los cultivos, disminución en la longevidad (especialmente en plantas perennes y semiperennes), imposibilidad de obtención de semilla sexual o asexual y deterioro en la calidad de los productos comercializados (como variaciones indeseables en follaje y flores en plantas ornamentales, cambios de características organolépticas de frutos, reducción del tamaño de tubérculos, etc.) (figura 58).

FOTOS: Oumar Traore



Figura 58. Síntomas de clorosis generalizada y enanismo causados por *Rice yellow mottle virus* (RYMV) en cultivos de arroz de África.

Los efectos resultan de la sumatoria de una serie de trastornos metabólicos, fisiológicos y genéticos en las plantas infectadas, que se manifiestan a partir de diferentes síntomas y cuyo grado de severidad depende de la resistencia de los hospedantes a la infección viral, de las variantes de los virus, de las condiciones ambientales que rigen la interacción entre unos y otros, y del manejo agronómico que se da a los cultivos.

La respuesta de las plantas a las infecciones virales condiciona los niveles de replicación, acumulación y movimiento sistémico de los virus y, por ende, la sintomatología resultante en los hospedantes. Los tipos de respuesta varían desde la susceptibilidad hasta la resistencia extrema e incluso la inmunidad.

Los síntomas inducidos por los virus en las plantas se pueden dividir, dependiendo de su localización, en locales o sistémicos, o, con base en su tamaño, en microscópicos o macroscópicos.

Los síntomas locales se presentan en los sitios de ingreso del virus en los tejidos del hospedante, mientras que los sistémicos se generan en lugares diferentes, como resultado del movimiento de los virus a través de plasmodesmos y haces vasculares.

Los síntomas microscópicos son aquellos que resultan de cambios en la estructura, morfología, funciones metabólicas o genéticas de las células infectadas; los macroscópicos resultan de la alteración de uno o varios tejidos u órganos de las plantas. La sumatoria de los diversos síntomas macroscópicos y microscópicos que sufren las plantas infectadas por uno o varios patógenos virales se denomina síndrome.

Síntomas locales

Como se expuso, los síntomas locales se desarrollan en los sitios de ingreso del virus y en las células aledañas, por lo que, generalmente, implican manifestaciones de tamaño reducido y de poca utilidad para el diagnóstico en campo, aunque sí de mucha importancia desde el punto de vista experimental en las pruebas de transmisión viral sobre plantas indicadoras. Los síntomas pueden ser similares a los ocasionados por insectos chupadores en las plantas, o incluso a lo ocurrido por daños mecánicos, por lo que no son fáciles de identificar por fuera del contexto de los experimentos de inoculación.

Existen tres tipos básicos de respuestas locales en las plantas: lesiones necróticas, lesiones cloróticas y anillos concéntricos (figura 59). Las primeras resultan de la muerte de las células que se tornan de colores oscuros como resultado de reacciones de hipersensibilidad del hospedante. Estas reacciones incluyen, entre otros aspectos, la oxidación de compuestos fenólicos por peroxidasas y polifenoloxidasas y el aumento de la concentración de etileno, que afecta la estructura celular y, en especial, la membrana plasmática. Las lesiones cloróticas se



FOTOS: (a) autores (b) Jairo Castaño

Figura 59. Síntomas locales inducidos por la inoculación mecánica de virus en plantas indicadoras. a. Manchas cloróticas; b. Manchas necróticas.

originan por la reducción en la cantidad de clorofila y de otros pigmentos fotosintéticos en las células infectadas; al igual que en el caso anterior, están acompañadas por el aumento de etileno, aunque en menor proporción. En último lugar, los anillos concéntricos pueden ser del tipo clorótico o necrótico, pero típicamente separados por células de aparente coloración normal.

El desarrollo de lesiones locales, luego de un proceso de inoculación mecánica y del uso de un agente abrasivo (por ejemplo, carborundum o celita), es uno de los primeros aspectos que se evalúa cuando se sospecha de la presencia de una enfermedad de origen viral en plantas. Incluso, en algunas regiones tropicales que no tienen acceso a laboratorios de diagnóstico fitopatológico, esa es una de las pocas metodologías disponibles para la definición de la naturaleza viral de una enfermedad

observada en el campo. Para estas pruebas es habitual utilizar plantas indicadoras de las familias *Solanaceae*, *Chenopodiaceae*, *Brassicaceae*, *Leguminosae* y *Cucurbitaceae*; los géneros más utilizados son *Nicotiana*, *Solanum*, *Chenopodium*, *Cucumis*, *Phaseolus*, *Vicia* y *Brassica*, entre otros, gracias a su fácil manejo en condiciones de invernadero y a la rápida inducción de síntomas sobre sus hojas (figura 60).

Síntomas sistémicos

Estos síntomas se pueden presentar de forma independiente en un tejido particular, pero con mayor frecuencia consisten de una combinación compleja de señales individuales como resultado de la alteración simultánea de diferentes rutas metabólicas, procesos genéticos o respuestas de defensa en el hospedante.

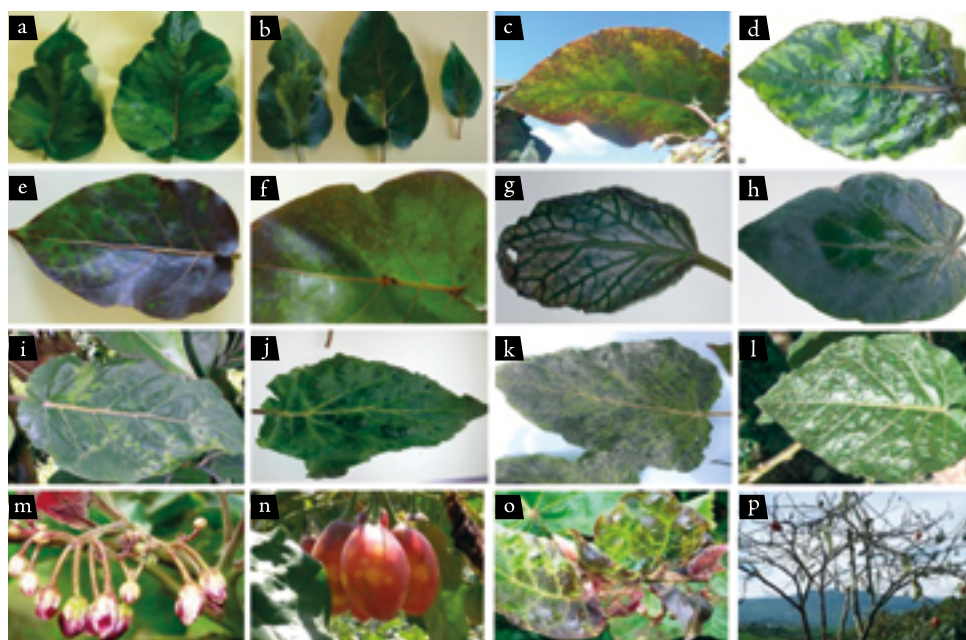


Figura 60. Algunas plantas indicadoras utilizadas para evaluar la infección viral de un hospedante en estudio. a. Inoculación de Sweet potato feathery mottle virus (SPFMV) en *Ipomoea setosa*; b. Inoculación de Sweet potato mild mottle virus (SPMMV) en *Nicotiana debneyi*; c y d. Inoculación del potyvirus Sunflower chlorotic mottle virus (SUCMOV) en plantas indicadoras.

Pueden ser cambios de coloración de tejidos, marchitamientos, necrosis, anillos concéntricos y grabados, malformación en tejidos y órganos vegetales, cambios en las características organolépticas, disminución del crecimiento de las plantas y, finalmente, reducción en el rendimiento y muerte de las plantas.

Una mención especial merecen los criptovirus (géneros *Alphacryptovirus* y *Betacryptovirus*) que, como su nombre lo indica, no causan síntomas visibles en las plantas o, de hacerlo, se manifiestan de manera muy tenue. No se transmiten de modo mecánico ni por vectores, pero sí por polen y semilla sexual, y son uno de los grupos de virus más eficientemente transmitidos por estos medios. Tienen dsRNA como genoma y se acumulan poco en los tejidos. Su bajo título viral no es la única razón para explicar las infecciones asintomáticas, pues otros grupos de virus que también comparten esta característica (como PMTV y PLRV) pueden inducir síntomas severos sobre sus hospedantes.

Algunos de los síntomas sistémicos que con mayor asiduidad son inducidos por virus en plantas se ilustran en la virosis del tamarillo, un síndrome causado por al menos ocho virus que incluyen: potyvirus, tospovirus, polerovirus, tobamovirus, nepovirus, alfamovirus y cucumovirus. Aunque esta enfermedad se manifiesta sobre todo por mosaicos rugosos acompañados de la deformación de las hojas y brotes, se ha encontrado que también es frecuente la ocurrencia de al menos otros veinte síntomas que incluyen: engrosamiento de venas, clorosis, bandeamiento de nervaduras principales, amarillamiento de venas secundarias, islas verdes, manchas aceitosas, anillos necróticos en hojas y frutos, bronceamiento de tejido foliar, aclaramiento de venas, amarillamiento intervenal, defoliación, aborto de flores, proliferación de brotes, cambios en la coloración de flores y frutos, endurecimiento de pulpa y grabados en frutos (figura 61).



FOTOS: Margarita Jaramillo, Mariluz Ayala, John Álvarez

Figura 61. Síntomas sistémicos provocados por un complejo viral en plantas de tamarillo en los Andes suramericanos. a-b. Amarillamiento intervenal; c. Anillos necróticos; d. Bandeamiento de nervaduras; e-f. Bronceamiento; g-h. Aclaramiento; i. Moteados; j-k. Islas verdes y ampollas; l. Manchas aceitosas; m. Cambios de color en flores; n. Grabados y cambios de color en cáscara de frutos; o. Deformación de brotes; p. Defoliación y marchitamiento general de plantas.

Cambio en la coloración de los tejidos

Este síntoma, por lo general, es el más frecuentemente asociado a la presencia de infecciones virales en plantas. Los mosaicos, moteados, rayados y estriados (en plantas monocotiledóneas), aclaramiento de venas, clorosis y amarillamientos son los más comunes en las hojas; mientras que las variegaciones y cambios de color (*color breaking*) se presentan en flores y frutos.

Las manifestaciones citadas resultan de la interferencia viral de la síntesis de clorofila, el desarrollo de los cloroplastos y la fotosíntesis en general. Se ha encontrado que los tejidos con estos cambios de color presentan patrones hormonales similares a los hallados en plantas senescentes, es decir, aumento de las concentraciones de etileno y ácido abscísico, y disminución de citoquininas.

Los mosaicos son áreas irregulares con diferentes tonalidades de color en las hojas que van desde el verde oscuro hasta el amarillo claro; casi siempre se presentan en hojas jóvenes, mientras que en hojas viejas es más frecuente encontrar islas verdes sobre un fondo amarillo claro. En plantas monocotiledóneas, dada la presencia de nervaduras paralelas que separan áreas de lámina foliar, los mosaicos se manifiestan como rayados cloróticos que comienzan por pequeños puntos, que coalescen a medida que aumenta el nivel de infección viral (figura 62).

Cuando los mosaicos son más localizados o presentan patrones uniformes suelen recibir el nombre de moteados, aunque la diferenciación de ambos síntomas no siempre es fácil de definir en el campo. Algunos virus

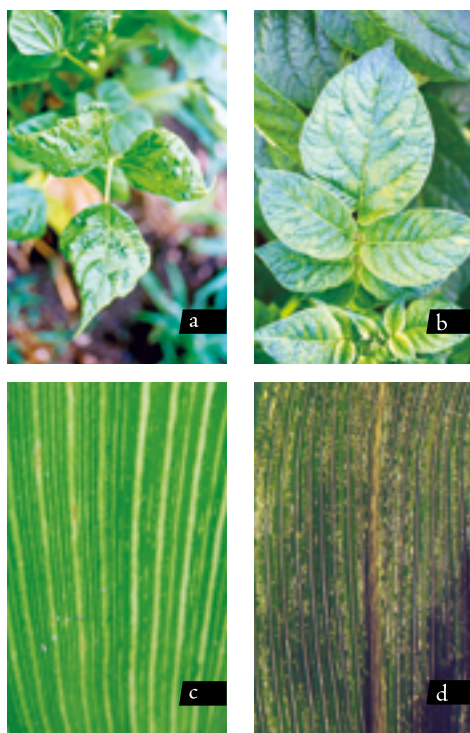
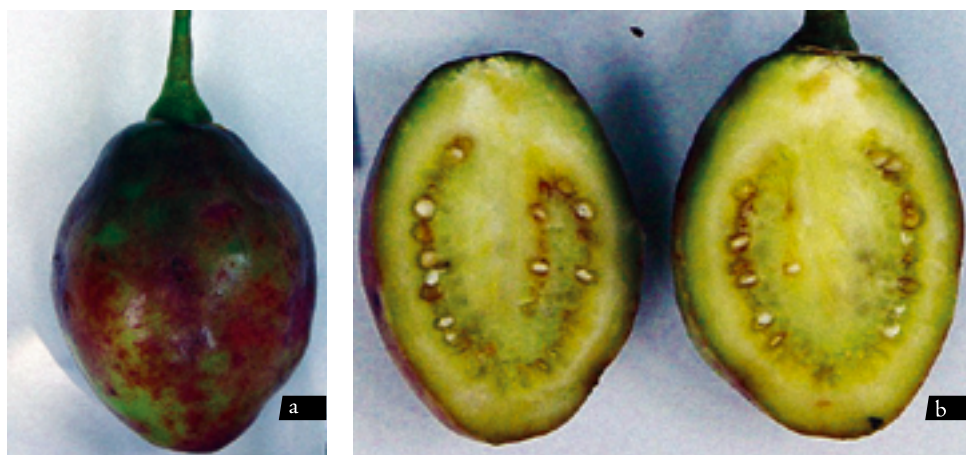


Figura 62. a. Mosaico común del frijol causado por el *Bean common mosaic virus* (BCMV); b. Mosaico causado por *Potato virus Y* (PVY) en papa; c. Estriados en hojas de maíz causados por un nucleorhabdovirus no identificado; d. Rayado causado por *Maize rayado fino virus* (MRFV).



Figura 63. a. Amarillamiento de venas causado por *Potato yellow vein virus* (PVV); b. Moteados en plantas de papa inducidos por *Potato mop-top virus* (PMTV).



FOTOS: autores

Figura 64. a. Cambios en la coloración; b. Deformación de frutos de tamarillo en crecimiento, infectados por un complejo de virus en los Andes suramericanos.

causan la clorosis generalizada del tejido foliar, lo que puede comenzar con el aclaramiento de venas en las hojas jóvenes y desencadenar en el aparente amarillamiento de toda la planta (figura 63).

Con respecto a los cambios en la coloración de flores y frutos, es usual que se presenten variegaciones o cambios de color (*breaking*) en aquellas plantas que también exhiben mosaicos en las hojas. Dichas alteraciones consisten en la pérdida de pigmentos como antocianinas y carotenoides, que conducen a cambios en los patrones de colores rojos, amarillos y púrpura en dichos órganos. Con marcadas excepciones (como en tulipanes), dichas modificaciones deterioran la calidad de las plantas ornamentales y frutales, pues generalmente también incluyen cambios en la textura, la consistencia, el sabor y el olor de flores y frutos (figura 64).

radiculares o la corteza de plantas leñosas. Esto puede resultar en el marchitamiento descendente de las plantas, síntoma conocido como decaimiento, que conduce a la muerte de porciones o de la totalidad de la planta, como en la psorosis de los cítricos que induce el deterioro de regiones de la corteza (figura 65).



FOTOS: Javier Orduz Rodríguez y Heberth Velásquez

Figura 65. a. Planta de cítricos completamente marchita como resultado de la infección múltiple por *Citrus leprosis virus* (ciLV) y *Citrus tristeza virus* (CTV); b. Psorosis en tangelo Minneola causada por *Citrus psorosis virus* (CPSV).

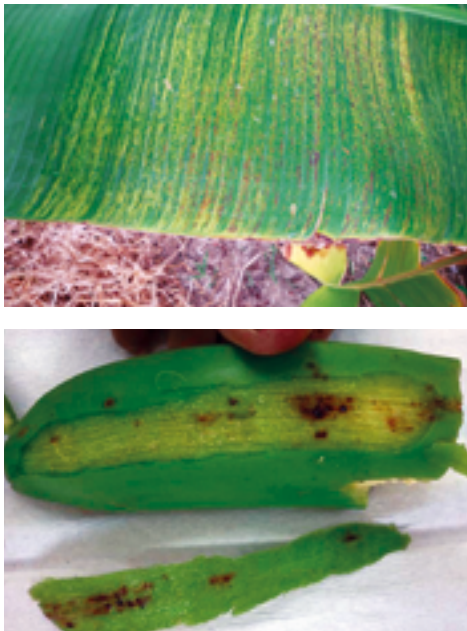
Marchitamientos

Un efecto frecuente de las infecciones virales en las plantas es la pérdida de turgencia de los tejidos como resultado de la alteración de los procesos de absorción, movimiento y transpiración de agua. Dichas alteraciones son más evidentes cuando los virus afectan los tejidos del xilema y sus células acompañantes, las células

Necrosis

Dada la condición de patógenos obligados que tienen los virus, la necrosis de los tejidos no es una condición habitual de las enfermedades virales, sino más bien la excepción. Sin embargo, existen casos de variantes agresivas de virus (ejemplos: PVY-NTN, TRV, BSV) que desencadenan la muerte de porciones de tejido o de la totalidad de las plantas (figura 66).

Por lo general, la necrosis comienza a manifestarse a lo largo de las nervaduras foliares, como resultado de respuestas hipersensibles de las células del hospedante, seguida de aumentos dramáticos en la concentración de etileno que afectan la permeabilidad de las membranas y, por ende, la estructura celular. La necrosis se puede extender a los tejidos del floema (por ejemplo, PLRV en papa, BSV en banano) y eventualmente por toda la planta, hasta alcanzar los tejidos meristemáticos y, por tanto, conducir a la muerte.



FOTOS: Jorge Tenorio

Figura 66. Síntomas de rayados foliares y necrosis inducidos por el *Banana streak virus* (BSV) en diferentes tejidos de plantas de banano.

Anillos concéntricos y grabados

Los anillos concéntricos son síntomas de gran utilidad para el diagnóstico de enfermedades virales y consisten en patrones concéntricos de capas superficiales de células cloróticas o necróticas sobre hojas y frutos, separadas de regiones sanas en apariencia, es decir, con la coloración verde usual; en algunos casos dichas alteraciones no presentan una forma definida y reciben el nombre de grabados (*etch*) (figura 67).

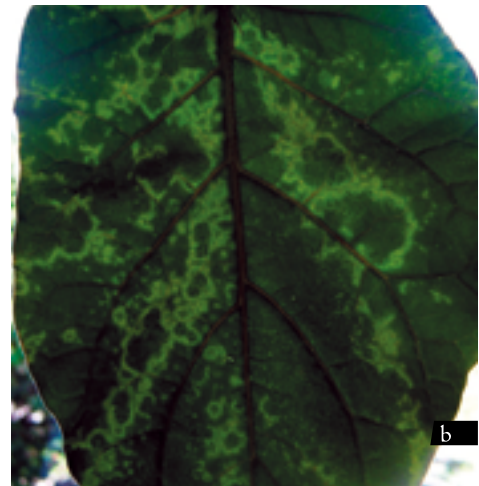
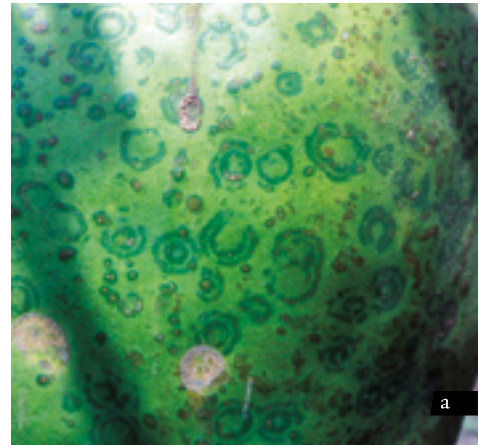


Figura 67. a. Anillos concéntricos inducidos por *Papaya ringspot virus* (PRSV) en frutos de papaya; b. Grabados sobre tejido foliar de tamarillo inducidos por un complejo viral.

Malformación de tejidos y órganos

Los virus provocan sobre sus hospedantes cambios en la morfología de varios tejidos y órganos, como resultado de tasas diferenciales de replicación de las células vegetales por cambios en los equilibrios hormonales y la alteración de las tasas de transcripción y traducción de proteínas. Esto conduce a que algunas células sufran hipoplasias, hiperplasias u otras permanezcan sin cambios evidentes, situaciones que se manifiestan como anomalías anatómicas del tipo tumor, vejigas, enrollamiento foliar, enaciones (engrosamiento diferencial de porciones de nervaduras), escobas de bruja o rosetas (proliferación incontrolada de brotes en ápices), anomalías de la lámina foliar (*leaf narrowing*), canales y punteaduras sobre la corteza de tallos (*stem pitting*). Cuando algunos de estos cambios afectan frutos o productos comercializados del vegetal, la calidad estética disminuye y, por consiguiente, su precio en el mercado; incluso se pueden descartar desde el campo, lo que se traduce en pérdidas directas para los agricultores (figura 68).

{ 104 }



FOTOS: (a) Juan Gonzalo Morales y (b) autores

Cambios en las características organolépticas

En diferentes plantas, la infección viral se manifiesta por los cambios en la textura, sabor, color, olor, consistencia, composición (por ejemplo, grados Brix, nivel de proteínas) y propiedades de las cáscaras de frutos y otros órganos de almacenamiento vegetal. Generalmente, dichos cambios se acompañan de la deformación de tejidos o la presencia de anillos concéntricos en la superficie o en su interior (figura 69).



FOTOS: (a) autores y (b) Jairo Castaño Zapata

Figura 69 . a. Frutos de granadilla con síntomas de anillos y grabados resultado de infección viral por *Soybean mosaic virus* (SMV); b. Fruto de calabacín con deformaciones inducidas por el *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV).

Reducción en el crecimiento y el rendimiento de las plantas

Las enfermedades virales se manifiestan en su conjunto por la presencia de plantas con deficiencias en su crecimiento y desarrollo, síntomas que son descritos como enanismos o achaparramientos (*dwarfing*, *stunting*). Tales reducciones se deben a la alteración que inducen los virus sobre diferentes rutas metabólicas y en particular sobre la maquinaria de síntesis de proteínas del hospedante. Una planta infectada por virus genera menos de sus proteínas y en cambio produce gran cantidad de proteínas virales, con la consiguiente reducción de su tamaño y rendimiento (figura 70).



FOTOS: (a) Carlos Chuquillanqui y (b) Barry Croft

Figura 70. a. Plantas de papa infectadas por *Potato leafroll virus* (PLRV); muestra bajo crecimiento y desarrollo en comparación con otras plantas cultivadas en las mismas condiciones; b. Plantas de caña de azúcar infectadas por *Fiji disease virus* (FDV) con una notable reducción de su crecimiento.

Recuperación de síntomas

Es necesario tener presente que en el campo pueden aparecer plantas con síntomas virales tales como los descritos y que, sin embargo, pueden pasar por un proceso de *recuperación* o *reversión de síntomas*, lo cual desde ningún punto de vista significa que ha ocurrido la eliminación del virus. Esto sucede por lo general en tejidos nuevos formados luego de un cambio de etapa fisiológica de las plantas (por ejemplo, inicio de floración) o por la influencia de factores ambientales como variaciones abruptas de temperatura y de condiciones de pluviosidad.

Además, se ha identificado que el proceso de *recuperación* de las plantas está estrechamente asociado con el mecanismo de defensa por silenciamiento transcripcional (TGS) o (PTGS) de genes, lo que en términos ordinarios se conoce como defensa por RNA de interferencia (siRNA), que se explicará en el capítulo IX.

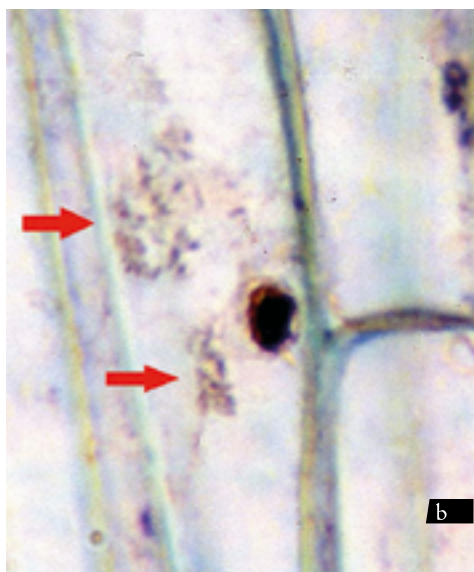
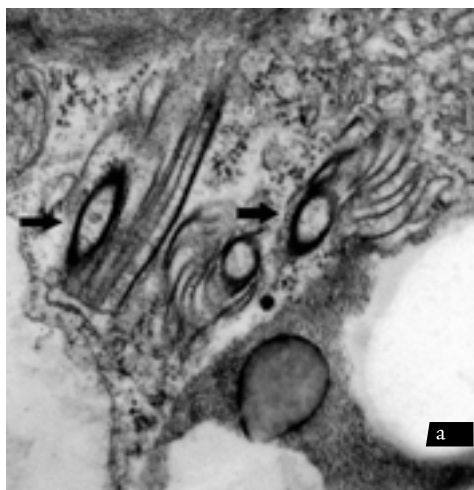
Síntomas microscópicos

{ 105 }

Estos síntomas corresponden a daños que afectan la estructura normal de las células o de sus organelos, membranas o paredes. Los principales cambios citológicos asociados a la infección viral surgen como resultado de la acumulación de viriones o de proteínas virales en el citoplasma, núcleo y, con menos frecuencia, en otros organelos de la célula vegetal, lo que da origen a las denominadas inclusiones citoplásmicas, viroplasmas o cuerpos de inclusión.

Esas estructuras pueden tener forma paracristalina o no cristalina. Las primeras consisten en agregados regulares virales que generan arreglos con formas alargadas, curvadas, fibrosas, tubulares, espinosas, etc. Las inclusiones no cristalinas implican cuerpos amorfos, redondeados u ovales con apariencia granular, que resultan de la acumulación mixta de viriones, proteínas y desechos celulares u organelos modificados. Un ejemplo de estas últimas corresponde a las inclusiones tipo ruedas de carreta (*pinwheels*), típicamente

inducidas por los potyvirus y por los viroplasmias que resultan del ensamblaje de los caulimovirus. Ya que ambos tipos de estructuras pueden alcanzar tamaños relativamente grandes al interior de las células, es posible su observación al microscopio óptico, previa tinción con colorantes como Azure A y Calcomine Orange-Luxol Brilliant Green (*O-G stain*) (figura 71).



{ 106 }

FOTOS: FRANCISCO MORALES

Figura 71. Inclusiones citoplasmáticas no cristalinas tipo *pinwheels* inducidas por potyvirus en células de plantas hospedantes, observadas con: a. Microscopía electrónica de transmisión; b. Microscopía óptica.

Las células vegetales infectadas con virus pueden presentar diferentes anomalías en el núcleo, inclusive la desintegración de los nucléolos (sitios activos de síntesis de RNA ribosomal) o su aumento, la vesiculación del espacio perinuclear y la presencia de inclusiones virales en la matriz nuclear.

En los organelos se puede presentar el aumento en el número de vesículas en el citoplasma, así como también cambios en la morfología y número de cloroplastos, con presencia de vesículas periféricas, variaciones en tamaño y, sobre todo, reducción en la cantidad de pigmentos clorofílicos, lo que en su conjunto afecta la eficiencia fotosintética de los hospedantes. En algunos casos ocurre la agregación de cloroplastos y la hipertrofia de mitocondrias. También se ha observado que los rhabdovirus inducen el aumento de sistemas membranosos del retículo endoplásmico en las células infectadas.

En la pared celular se presenta el depósito anormal de callosa y de cuerpos paramurales (entre la membrana y la pared) que terminan por engrosar esta estructura; además de la inducción de modificaciones sobre el tamaño de los plasmodesmos, como resultado del movimiento viral célula-célula.

Por último, se pueden presentar cambios en los patrones de acumulación de almidón en el citoplasma; se puede reducir —como sucede en diferentes enfermedades que causan mosaicos— o, por el contrario, aumentar, como ocurre en la infección por PLRV en la papa.

Rango de hospedantes

Un hospedante vegetal de virus es aquella planta que permite la replicación y el ensamblaje viral. Es posible que ese hospedante sea de tipo local o sistémico, lo que depende de que el virus esté restringido a las células de ingreso o se pueda mover a otras células distantes, a través de los plasmodesmos y haces vasculares.

FOTO: José Fernando Gil



Figura 72. Invernadero utilizado para realizar evaluaciones experimentales de virus de plantas, incluso pruebas de rango de hospedantes. En el caso de la ilustración se emplearon diferentes especies de plantas para evaluar el rango de un nuevo pomovirus que afecta solanáceas en Suramérica.

El conocimiento que se tiene de la extensión del rango de hospedantes de los virus de plantas es limitado, por cuanto solo se han evaluado especies de importancia agrícola y plantas indicadoras de fácil crecimiento y manejo en condiciones experimentales (figura 72).

Con respecto al rango de hospedantes, no es posible hacer generalizaciones sobre un grupo de virus y, todavía más, sobre una especie viral en particular, pues se presentan notables diferencias aún entre variantes de un mismo agente. De esta forma, existen virus completamente polífagos como el *TSWV*, que cuenta con un rango de 800 especies vegetales pertenecientes a 80 familias botánicas diferentes, o el *CMV* que infecta unas 1.200 especies de 100 familias botánicas; también están aquellos que afectan a una única especie vegetal, tal como ocurre con el *Barley stripe mosaic virus* (*BSMV*), que solo infecta en condiciones de campo a la cebada.

Los factores que determinan el rango de hospedantes encierran desde la imposibilidad para el desensamblaje de los viriones cuando recién ingresan en las células, pasando por la restricción de su replicación o expresión del genoma, hasta la limitación del movimiento célula-célula del virus.

Estos eventos están mediados por los diferentes mecanismos de defensa de las plantas y por la posibilidad de asociación de los virus con sistemas membranosos y organelos al interior de las células, en los que ocurren procesos como la replicación o el ensamblaje de las partículas maduras. Sin embargo, la definición de rangos de hospedantes naturales de muchos virus y la de los mecanismos que regulan su extensión son apenas dos de los tantos campos que requieren un mayor estudio en las regiones tropicales y subtropicales del mundo.



Transmisión de virus

La presencia de pared celular en las células vegetales impide que los virus, una vez en contacto con sus hospedantes, puedan penetrar directamente en ellas, situación que sí ocurre en los hospedantes animales, donde el ingreso viral por lo común está mediado por proteínas receptoras de membrana plasmática. Por esa razón, los virus de plantas utilizan dos rutas básicas para la transmisión: vertical o interna y horizontal o externa.

La transmisión vertical se refiere a la invasión de los virus a los órganos propagativos de las plantas, bien sean ellos de origen sexual o asexual. Este mecanismo es un aspecto clave para la dispersión viral desde el punto de vista agronómico, y muy especialmente para aquellos cultivos que se multiplican por medio de estolones, injertos, bulbos, cormos, estacas, esquejes, tubérculos y acodos, entre otros. La transmisión viral por semilla sexual es más limitada; se estima que solo opera para cerca del 10%-15% de los virus conocidos, por cuanto existen restricciones anatómicas para la llegada de fitopatógenos al embrión, como resultado de la defensa estructural que han desarrollado las plantas para proteger a su progenie. Algunos virus, además, se pueden transmitir conjuntamente por polen y por semilla sexual, como, por ejemplo, ciertas especies de los géneros *Ilarvirus*, *Nepovirus*, *Sobemovirus* e *Idaeovirus*.

Por su parte, la transmisión horizontal involucra un agente biótico o abiótico externo. En el primer caso se le denomina vector y es un organismo vivo que se encarga de adquirir el virus, en algunas ocasiones retenerlo en su cuerpo y, posteriormente, transmitirlo a plantas sanas. Los vectores que han coevolucionado con los virus vegetales para tal fin son en primer término insectos del orden *Hemiptera* y en específico de las familias *Aphididae* (áfidos), *Aleyrodidae* (moscas blancas), *Cicadellidae* (saltahojas, cicadélidos), *Delphacidae* (saltapuntas, delfácidos), *Pseudococcidae* (cochinillas harinosas o escamas), además de algunos coleópteros de las familias *Chrysomelidae*, *Coccinellidae*, *Curculionidae* y *Meloidae*, y de los trips (*Tripidae*, *Thysanoptera*) (figura 73).

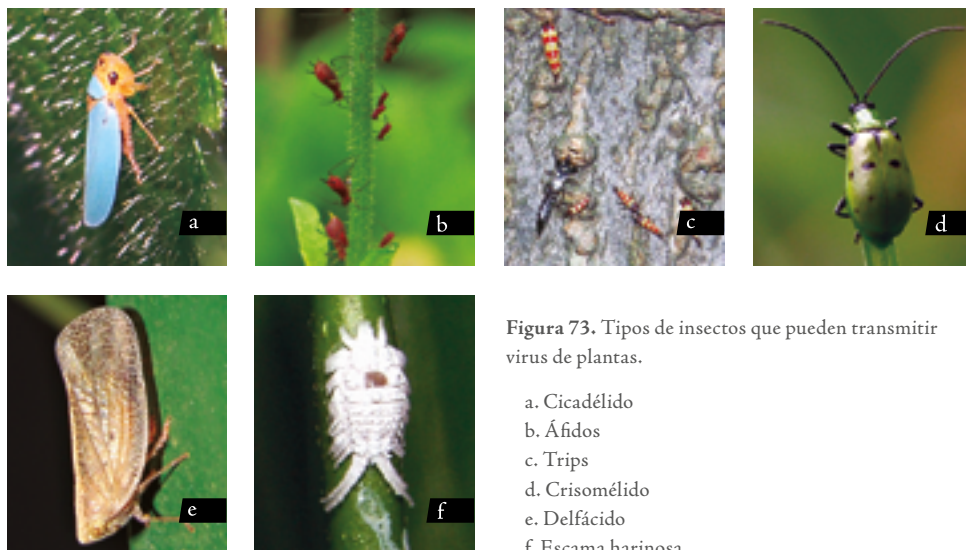


Figura 73. Tipos de insectos que pueden transmitir virus de plantas.

- a. Cicadélido
- b. Áfidos
- c. Trips
- d. Crisomélido
- e. Delfácido
- f. Escama harinosa

De manera similar, se han encontrado virus transmitidos por otros artrópodos como los ácaros (*Eriophyidae*), así como por hongos *Chytridiomycetes* (*Fungi*) (por ejemplo, *Olpidium*), pseudohongos protozoarios como los plamosdionfóridos (ejemplo: *Spongospora*) y por nematodos de las familias *Longidoridae* (ejemplo: *Xiphinema*) y *Trichodoridae* (ejemplo: *Paratrichodorus*) del orden *Dorylaimida*.

El segundo mecanismo de transmisión horizontal corresponde a la dispersión mecánica como resultado del contacto directo entre tejidos de plantas infectadas y sanas, situación que opera con gran eficiencia en el campo para virus altamente estables como los tobamovirus, potexvirus y hordeivirus. Este mecanismo de transmisión es muy importante en trabajos experimentales pues, como se ha mencionado, se utiliza con fines diagnósticos sobre plantas indicadoras para estudiar rangos de hospedantes. La transmisión mecánica es la piedra angular sobre la que se estableció la virología vegetal y aún hoy en día, con las nuevas herramientas biotecnológicas disponibles, continúa siendo clave para el estudio básico y aplicado de los virus de plantas.

Desde el punto de vista agronómico, la transmisión mecánica, ya sea por medio de herramientas, equipos agrícolas y aún por el propio roce de las plantas que causan los operarios, es un aspecto importante que puede explicar la dispersión dentro de los cultivos de algunos virus. Las prácticas culturales, como las podas de formación y sanitarias, la recolección de flores y frutos y el manejo de arvenses, son medios eficientes para la transmisión viral cuando no se tienen en cuenta criterios fitopatológicos.

Transmisión horizontal

La transmisión horizontal de virus incluye su dispersión secundaria ya sea desde una o desde un grupo de plantas foco a otras plantas, usualmente las más cercanas, a partir de medios mecánicos o de agentes bióticos que actúan como vectores. A

continuación se describen las principales variantes asociadas con este sistema de transmisión.

Vectores artrópodos

Entre los vectores de virus, los insectos hemípteros (áfidos, moscas blancas, saltahojas, saltapuntas y cochinillas harinosas) (figura 74) son los más numerosos. Los áfidos son el grupo principal, con un estimativo de cerca de 200 especies de al menos 13 géneros de la familia *Aphididae*, y transmiten unas 300 especies de virus de plantas. En adición, se han identificado como vectores de virus nueve especies de trips, tres de moscas blancas, 60 de coleópteros y dos de ácaros (tabla 6).

Desde los años cincuenta del siglo pasado, las interacciones entre los virus y sus vectores han sido caracterizadas con base en los períodos necesarios para adquirir, incubar, transmitir y retener tales virus por parte de los respectivos vectores. Así, los lapsos de adquisición e inoculación corresponden a los tiempos mínimos que requiere el vector para tomar el virus desde una planta infectada y poder transmitirlo a una planta sana. El período de latencia o incubación, por su parte, es el intervalo que debe transcurrir entre la adquisición del virus y el momento en que el vector puede transmitirlo de modo eficiente. Por último, el período de retención es el tiempo durante el cual el vector permanece virulífero, es decir con capacidad de transmitir el virus.

Con base en los criterios anteriores se han establecido tres categorías para definir la interacción virus/vectores: transmisión no persistente, semi-persistente y persistente (también llamada circulativa). La interacción es más específica para el tipo persistente y más genérica para la no persistente; es decir, en esta última un mismo vector puede transmitir diferentes especies de virus (figura 75).

En la transmisión no persistente, los períodos de adquisición e inoculación son de segundos a minutos, mientras que la retención ocurre solo por rangos

FOTOS: Francisco Morales



FOTO: Jorge Tenorio



FOTO: Jairo Castaño Zapata



{ 111 }

Figura 74. Infestación de insectos transmisores de virus en plantas. a. Áfidos (alados); b. Moscas blancas; c. Cochinillas; d. Delfácidos.

de minutos a varias horas y no se requieren períodos de incubación. En la transmisión semipersistente, la adquisición e inoculación es de minutos a horas y la retención puede alcanzar varias horas. Para estos dos casos, la asociación del vector con el virus

es externa, por lo general en el aparato bucal, y eventualmente alcanzan la cutícula del intestino proximal (para algunas interacciones semipersistentes), por lo que es frecuente que el virus se pierda durante las mudas del vector. Ejemplos de

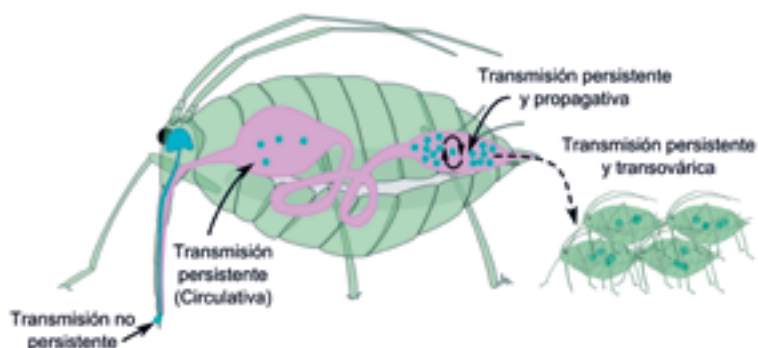


Figura 75. Tipos de transmisión de virus de plantas por parte de insectos vectores

Fuente: autores

géneros virales que tienen especies transmitidas de forma no persistente son: *Alfavirus*, *Badnavirus*, *Bromovirus*, *Carlavirus*, *Caulimovirus*, *Closterovirus*, *Cucumovirus* y *Potyvirus*, entre otros. De manera semipersistente se transmiten algunos miembros de los géneros *Carlavirus*, *Caulimovirus*, *Closterovirus*, *Sequivirus*, *Crinivirus* y *Ampelovirus*.

Para la transmisión persistente, el virus debe ingresar a las glándulas salivares del insecto y es usual que circule a través de la hemolinfa, por lo que se requieren períodos de adquisición e inoculación de varios minutos a horas y uno de incubación que se extiende de 10 a 36 horas en promedio (aunque puede ser de varios días); la retención puede ocurrir por semanas e incluso extenderse a toda la vida del vector.

Los miembros de las familias *Luteoviridae*, *Geminiviridae*, *Nanoviridae* y *Reoviridae* son típicamente transmitidos de manera persistente no propagativa, mientras que virus de los géneros *Marafivirus*, *Nucleorhabdovirus*, *Cytorhabdovirus*, *Tenuivirus*, *Phytoreovirus*, *Fijivirus* y *Oryzavirus* son casi siempre

transmitidos por cicadélidos o delfácidos de forma persistente propagativa; es decir, el virus puede además replicarse en el cuerpo del vector.

Algunos virus además de ser propagativos pueden ser transferidos a la progenie del vector, por lo que su transmisión se denomina persistente transovárica, lo que es frecuente en interacciones entre cicadélidos y algunos rhabdovirus, phytoreovirus y marafivirus, y entre delfácidos y especies de tenuivirus, rhabdovirus, oryzavirus y fijivirus (tabla 6).

Vectores fúngosos y protozoarios

En 1958 se demostró que un hongo (*Olpidium brassicae*) participaba en la transmisión de la enfermedad de las venas grandes de la lechuga causada por *Lettuce big-vein associated virus* (LBVAV) (*Varicosavirus*). Desde entonces se han detectado otras tantas especies de hongos verdaderos (*Chytridiomycota*, *Fungi*) y pseudohongos (*Plasmodiophoridae*, *Protozoa*) como transmisores de virus vegetales.

{ 112 }

Tabla 6. Principales vectores y modos de transmisión de miembros de diferentes géneros de virus de plantas*.

Transmisión	No-circulativa		Circulativa (Persistente)	
Vector	No persistente	Semipersistente	No propagativa	Propagativa
Áfidos	<i>Alfavirus</i>		<i>Enamovirus</i>	
	<i>Carlavirus</i>	<i>Caulimovirus</i>	<i>Luteovirus</i>	<i>Cytorhabdovirus</i>
	<i>Cucumovirus</i>	<i>Closterovirus</i>	<i>Polerovirus</i>	<i>Nucleorhabdovirus</i>
	<i>Fabavirus</i>	<i>Sequivirus</i>	<i>Nanovirus</i>	<i>Phytoreovirus</i>
	<i>Potyvirus</i>	<i>Trichovirus</i>	<i>Umbravirus</i>	
	<i>Macluravirus</i>	<i>Waikavirus</i>		
				<i>Cytorhabdovirus</i>
Saltahojas y saltaplantas		<i>Badnavirus</i>	<i>Curtovirus</i>	<i>Fijivirus</i>
		<i>Waikavirus</i>	<i>Mastrevirus</i>	<i>Marafivirus</i>
				<i>Nucleorhabdovirus</i>
				<i>Oryzavirus</i>
				<i>Phytoreovirus</i>
Cochinillas harinosas		<i>Badnavirus</i>		<i>Tenuivirus</i>
		<i>Closterovirus</i>		
		<i>Trichovirus</i>		

Transmisión	No-circulativa		Circulativa (Persistente)	
Vector	No persistente	Semipersistente	No propagativa	Propagativa
Coleópteros	<i>Machlomovirus</i>		<i>Bromovirus</i>	
			<i>Carmovirus</i>	
			<i>Comovirus</i>	
			<i>Sobemovirus</i>	
			<i>Tymovirus</i>	
Ácaros		<i>Trichovirus</i>	<i>Rymovirus</i>	
Moscas blancas		<i>Crinivirus</i>		
		<i>Ipomovirus</i>	<i>Begomovirus</i>	<i>Begomovirus</i>
		<i>Carlavirus</i>		
Trips	<i>Machlomovirus</i>			<i>Tospovirus</i>
Hongos y protozoos	<i>Necrovirus</i>		<i>Bymovirus</i>	
	<i>Tombusvirus</i>		<i>Furovirus</i>	
	<i>Carmovirus</i>		<i>Ophiovirus</i>	
			<i>Varicosavirus</i>	
Nematodos		<i>Nepovirus</i>		
		<i>Tobravirus</i>		

*La inclusión de los géneros en cada categoría no indica que todas las especies tengan el mismo modo de transmisión.
Fuente: Astier et al. 2007

Estos vectores son parásitos obligados que afectan los tejidos subterráneos de las plantas y, por tanto, son denominados habitantes del suelo, pudiendo permanecer allí por varias décadas, en estado latente en forma de estructuras de resistencia (por ejemplo, quistosoros). Su movimiento activo se debe a la formación de zoosporas, que son esporas flageladas que se mueven por quimiotaxis atraídos por los exudados vegetales. Ellas ubican las raíces del hospedante, se adhieren allí e inyectan su citoplasma en el interior para dar origen a cuerpos o talos globosos (chytridios) o plasmodios (plasmodiofóridos), que colonizan los tejidos, y generalmente inducen hipertrofia y afectan los procesos de absorción de agua y nutrientes de las plantas (figura 76).

Los virus son adquiridos por los vectores por dos vías: para el caso de los chytridios (por ejemplos, *Olpidium brassicae*, *O. bornovanus*), los viriones son adsorbidos a las paredes externas de las zoosporas desde el suelo, gracias a la presencia de residuos de tejidos vegetales infectados; la inoculación ocurre cuando la zoospora penetra los

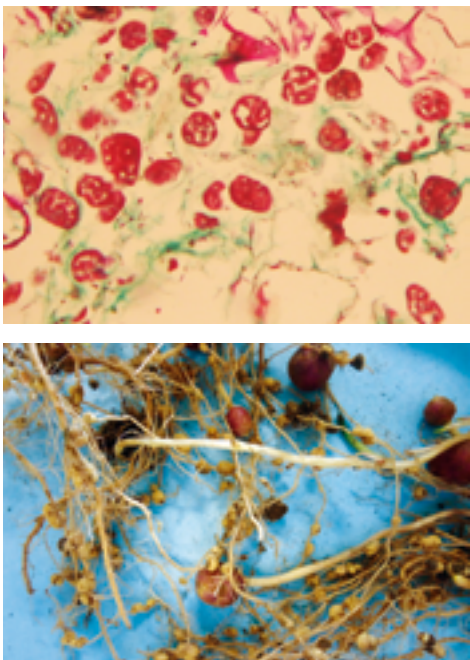


Figura 76. Quistosoros (estructuras de resistencia) y agallas en raíces de papa inducidas por *Spongospora subterranea*, el vector del Potato mop-top virus (PMTV).

pelos radiculares de sus hospedantes. Se ha encontrado que este mecanismo ocurre con algunos miembros de los géneros *Tombusvirus*, *Carmovirus*, *Necrovirus* y *Dianthovirus*, y es frecuente que solo opere para virus isométricos.

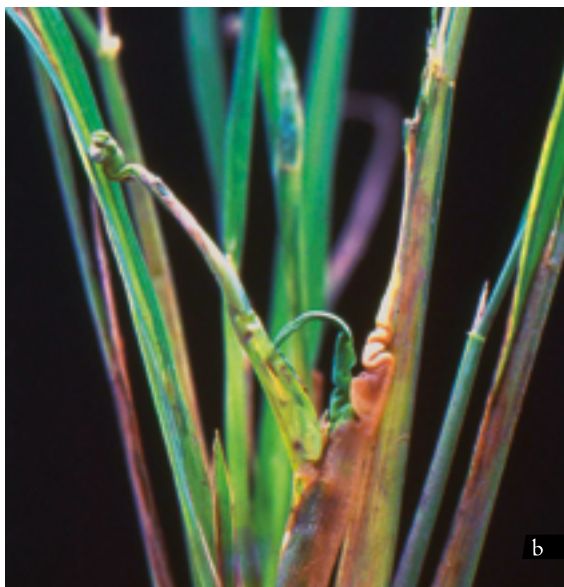
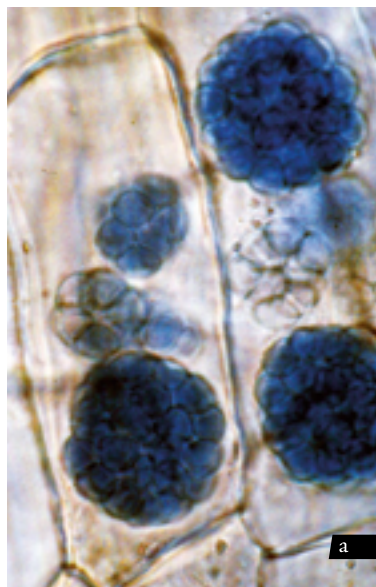
El segundo sistema se presenta al interior de los hospedantes durante la fase de parasitismo intracelular del vector, que por lo común es un plasmodiofórico (como *Spongospora subterranea*, *Polymyxa graminis*, *P. betae*), aunque se ha encontrado también en especies de *Olpidium* (por ejemplo, *O. brassicae* puede transmitir diferentes virus y usar las dos formas descritas). En ambas situaciones, las zoosporas liberadas por las estructuras de resistencia serán virulíferas (figura 77). Algunos virus, característicamente flexuosos de los géneros *Furovirus*, *Pomovirus*, *Pecluvirus*, *Benyvirus*, *Bymovirus*, *Ophiovirus* y *Varicosavirus*, son transmitidos por esta vía, muy específica, por demás.

Vectores nematodos

{ 114 } Los nematodos parasíticos son animales microscópicos que se alimentan de las raíces de las plantas por absorción mediante el uso de su aparato bucal

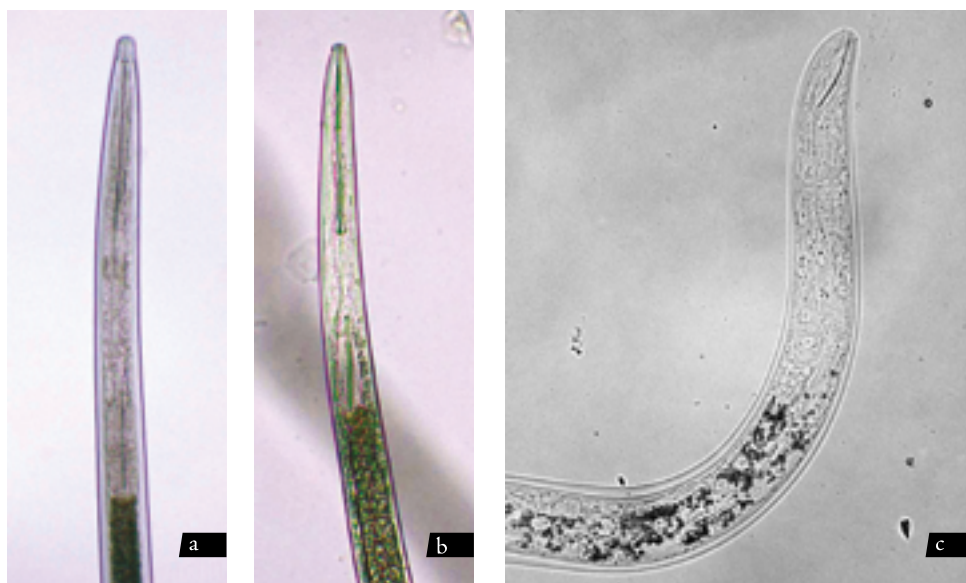
tipo estilete. Los nematodos transmisores de virus de plantas se ubican en las familias *Longidoridae* y *Trichodoridae*, caracterizados por presentar estiletes largos, dada su condición de ectoparásitos.

Los longidóridos (como *Longidorus*, *Paralongidorus* y *Xiphinema*) son nematodos de 4-8 mm de largo, muy delgados y con odontoestiletes de 60 a 250 μ m de longitud que transmiten sobre todo virus del género *Nepovirus*. Los trichodóridos (*Trichodorus* y *Paratrachodorus*, entre otros) son nematodos más pequeños, de 0,5 a 5 mm, con estiletes curvados (onquioestiletes), responsables de la transmisión de diferentes tobnavirus (figura 78). En contraste con los longidóridos, que absorben de forma directa el citoplasma celular gracias a sus largos estiletes, los trichodóridos no penetran las células sino que dañan la pared, al desintegrar la estructura, y de esta forma toman sus contenidos internos, incluso los virus que transmiten. Dada la poca movilidad de los nematodos en el suelo, su dispersión de virus en ausencia de actividad antropogénica es limitada en el espacio, más no en el tiempo, pues por lo general se mantiene activa entre ciclos de cultivos sucesivos.



FOTOS: Francisco Morales

Figura 77. a. Quistosos (estructuras de resistencia) de *Polymyxa graminis*; b. Plasmodiofórico vector del Rice stripe necrosis virus (RSNV), que causa la enfermedad denominada entorchamiento del arroz.



FOTOS: Paula Agudelo

Figura 78. Nematodos transmisores de virus de plantas. a. *Longidorus*; b. *Xiphinema*; c. *Paratrichodorus*. Se pueden comparar los largos estiletes rectos (odontoestiletes) de *Longidorus* y *Xiphinema* con aquel curvo (onquiostilete) de *Paratrichodorus*.

Los nematodos vectores pueden retener los virus durante semanas o incluso meses, gracias a que las partículas virales son adsorbidas en sitios específicos de la cutícula del tracto alimenticio anterior, en especial del esófago. Se ha encontrado que dichas partículas se pierden con la muda de estados juveniles, por lo que esta transmisión se ha definido como no-circulativa (externa).

Transmisión vertical

La transmisión vertical corresponde a la fuente de inóculo viral primaria en las explotaciones agrícolas, por cuanto se refiere a la infección directa del material de siembra, lo que repercutirá dramáticamente en la sanidad de las plantas desde sus primeros estados de desarrollo. A continuación describimos sus implicaciones cuando ocurre a partir de semilla sexual o asexual.

Semilla sexual

La transmisión de virus por semilla sexual se puede considerar como la excepción y no la norma en la virología vegetal, por cuanto solo aproximadamente del

10% al 15% de los virus descritos hasta el momento recurre a este medio. Los más frecuentes son algunas especies de los géneros *Potyvirus*, *Nepovirus*, *Ilarvirus* y *Comovirus*. Todos los *alphacryptovirus* y *betacryptovirus* (familia *Partitiviridae*) se transmiten por semilla sexual, pues por su naturaleza críptica carecen de otros mecanismos de dispersión (tabla 7).

Los virus transmitidos por semilla sexual se caracterizan por presentar un rango de hospedantes restringido y es habitual su transmisión de forma no persistente por parte de insectos vectores.

La transmisión por semilla es en extremo variable en cuanto a su eficiencia, al depender de un gran número de factores del hospedante, de las condiciones medioambientales y, por supuesto, de las variantes virales. Así, por ejemplo, se han encontrado tasas de transmisión del 70% al 80% en virus que afectan a una variedad particular de una especie vegetal, mientras que dichos valores pueden caer al 0% para otra variedad de la misma especie. Situaciones similares ocurren entre cepas virales de la misma especie.

Tabla 7. Transmisión de virus por semilla sexual en diferentes géneros virales y rangos de eficiencia de transmisión

Géneros de virus	Especies de virus transmitidos por semilla sexual/Especies evaluadas del género	Eficiencia de transmisión (%)
<i>Bromovirus</i>	1/6	ND
<i>Carlavirus</i>	2/60	2-90 %
<i>Closterovirus</i>	1/28	ND
<i>Comovirus</i>	6/15	1-90 %
<i>Cryptovirus</i>	31/31	100 %
<i>Cucumovirus</i>	3/3	1 %
<i>Geminivirus</i>	1/102	ND
<i>Luteovirus</i>	0/7	-
<i>Marafivirus</i>	0/3	-
<i>Nepovirus</i>	17/40	3-100 %
<i>Potexvirus</i>	4/36	1-6 %
<i>Potyvirus</i>	16/179	1-80 %
<i>Sobemovirus</i>	4/14	1-80 %
<i>Tenuivirus</i>	0/11	-
<i>Tobamovirus</i>	7/17	1-20 %
<i>Tospovirus</i>	1/13	1-95 %
<i>Tymovirus</i>	3/23	ND
<i>Viroides</i>	5/15	ND

ND: no definido

Fuente: Hull 2014

{ 116 }

La mayor parte de los virus transmitidos por semilla sexual requieren la infección del embrión, así como tener la capacidad de mantenerse activos durante las fases de maduración y latencia de las semillas. Algunas excepciones ocurren en virus como el *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Tomato mosaic virus* (ToMV) y otros tobamovirus, que se presentan en la superficie de las semillas, específicamente en los tegumentos, que, a su turno, entran en contacto,

por vía mecánica, con las microheridas que se generan durante la germinación de la radícula y así el virus llega a la plántula.

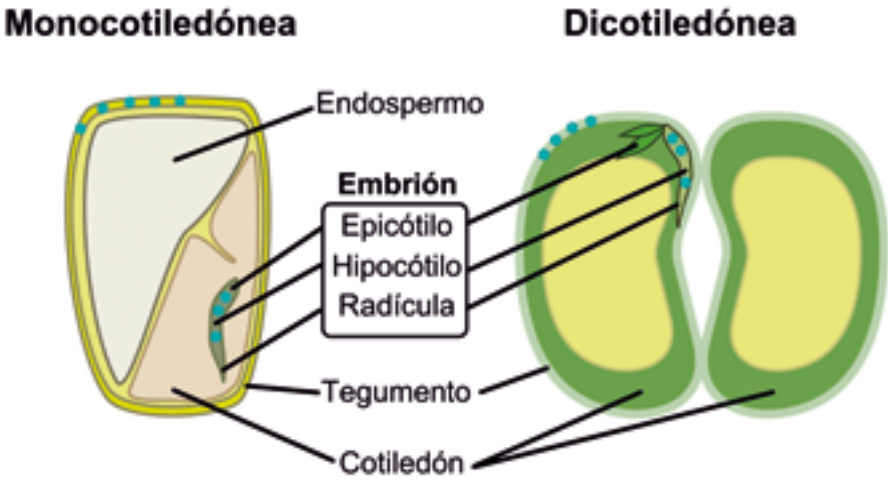
La infección del embrión puede ocurrir de dos maneras, indirecta o directa, dependiendo de que ocurra antes o después de la fertilización. Para el primer caso, el virus infecta los meristemas florales antes de la embriogénesis; entonces, el embrión es

infectado como resultado de la fusión de gametos, por lo que este mecanismo involucra la infección del polen, del óvulo o de ambos. Ejemplos de este tipo de transmisión corresponden a la infección de *Bean common mosaic virus* (BCMV) en frijol y del *Tobacco ringspot virus* (TRSV) en soya. La infección directa es más compleja, dada la separación física del embrión de los tejidos de la planta madre, por lo que se cree que ocurre en estados tempranos de desarrollo, pues aprovecha la movilización de nutrientes hacia el primordio embrionario. El virus llega primero al tegumento y progresivamente avanza al micrópilo, donde alcanza el suspensor y de allí, para finalizar, pasa al embrión, con el empleo de los plasmodesmos que conectan estas estructuras (figura 79). Un ejemplo de virus transmitidos por esta vía es el *Pea seed-borne mosaic virus* (psbmv).

Polen

La transmisión de virus por polen es un proceso que se traslapa con aquella efectuada por semilla. Por eso, algunos miembros de los géneros *Ilarvirus*, *Nepovirus*, *Sobemovirus* e *Idaeovirus* que se transmiten por semilla sexual, también lo hacen por polen.

La transmisión por polen requiere la habilidad del virus para infectar el tejido meristemático que da origen a las células madres del polen. En adición, se ha encontrado que algunos insectos (por ejemplo, trips) juegan un papel fundamental en la transmisión mediada por polen, gracias a sus múltiples visitas a flores sanas e infectadas, lo que ocasiona microheridas que abren una ruta adicional de infección mecánica a tejidos no gametofíticos.



{ 117 }

Figura 79. Anatomía de las semillas sexuales de plantas mono y dicotiledóneas. Se indican los posibles mecanismos de transmisión de virus por esta vía.

Fuente: autores

Semilla asexual

Cuando una planta es infectada sistémicamente por virus, por lo general todos sus tejidos, con excepción de la zona meristemática más apical, contienen partículas virales. Por tanto, cualquier órgano (bulbos, tubérculos, esquejes, cormos, etc.) o tejido (injertos,

porciones de tallo, entre otros) que se utilice para su propagación serán un medio efectivo de dispersión viral para la progenie clonal.

Dado que la propagación vegetativa es una actividad agrícola de uso frecuente para el establecimiento de huertos de frutales y cultivos de uso industrial, hortalizas



FOTOS: (a y c) autores; (b) Jorge Tenorio

Figura 80. Diferentes sistemas de multiplicación asexual de plantas de importancia económica en el trópico; se constituyen en medios excepcionales de dispersión de virus. a. Tubérculos de papa; b. Cormos de musáceas; c. Esquejes de plantas de vainilla.

y plantas ornamentales, este mecanismo de transmisión representa un gran riesgo fitosanitario (figura 80).

Por otra parte, la propagación de cultivo de tejidos *in vitro* que se realiza para diferentes plantas (por ejemplo, banano, flores, papa), en especial para generar bancos de plantas de madre, puede resultar en la infección masiva de los propágulos cuando no se toman medidas sanitarias técnicas, pues existe una creencia errónea generalizada de que el simple hecho de utilizar tejidos meristemáticos da origen a plantas libres de virus (figura 81).

Esta situación, eventualmente, se podría lograr cuando la propagación incluye la parte más apical del meristema (cerca de 0,2 mm) y se acompaña de tratamientos anexos de termoterapia y quimioterapia, aunque en todo caso es necesario confirmar la sanidad por pruebas serológicas o moleculares (figura 81).

Con respecto a la propagación asexual, la injertación presenta un interés especial, no solo porque muchas plantas de frutales se multiplican por esta vía, sino también porque el procedimiento es una práctica rutinaria que se utiliza con fines experimentales en pruebas de transmisión de virus de difícil propagación por otros medios (por ejemplo, virus de plantas arbóreas), dada la inestabilidad de los viriones por efecto de taninos, gomas y otros compuestos vegetales, o a la limitación de los virus a los tejidos del floema.

En términos prácticos, la transmisión de virus por injertación ocurre tanto a partir de la púa (vástago) como del patrón (portainjerto) que, al entrar en contacto, fusionan sus tejidos vasculares y, por ende, permiten el movimiento sistémico de los virus. Por supuesto, dicha situación ocurre cuando los dos tejidos hacen parte de la misma especie o de especies relacionadas, pues de lo contrario ocurrirá una incompatibilidad histológica; sin embargo, en ocasiones se ha encontrado que aún el contacto directo entre tejidos incompatibles puede conducir a un efecto de transmisión mecánica de virus. En casos como el de la infección por CTV en cítricos, es frecuente que por efecto del virus se presente incompatibilidad de tejidos injertados, lo que impide el desarrollo del nuevo brote.

Transmisión mecánica

Tal como se indicó, la transmisión mecánica de virus es especialmente importante desde el punto de vista experimental y en situaciones agrícolas en las que se generan heridas a las plantas, como resultado de la intervención antropogénica en los cultivos (como podas, daños por maquinaria, cortes involuntarios en manejo de malezas).

Desde el punto de vista experimental, se someten plantas sanas a una suspensión de savia infectada con virus, previo tratamiento de la superficie foliar con agentes abrasivos; incluso en muchos casos solo se requiere un

FOTOS: Paulina Germania
y Villena Ochoa

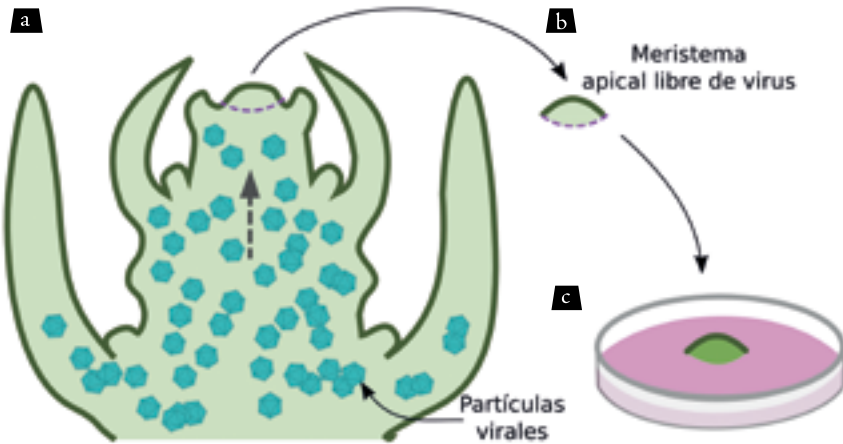


Figura 81. Plántulas de orquídeas propagadas por cultivo de tejidos del meristemo apical que muestran: a. Síntomas de amarillamiento; b. Deformación; c. Proliferación de brotes por causa de la infección por *Cymbidium mosaic virus* (cymmv); d. Diagrama del procedimiento del cultivo *in vitro* de meristemos para generar plantas libres de virus. Nótese la importancia de utilizar la región más apical de este tejido para obtener efectivamente propágulos no infectados.

Fuente: autores

{ 119 }

daño físico superficial del tejido que se produce con el paso de los dedos protegidos con guantes o gasas, o mediante elementos como cuchillas. Es importante anotar que, aunque esta es una práctica generalizada en la virología vegetal, no todos los virus de plantas se transmiten de tal modo o, si lo hacen, su eficiencia puede ser muy reducida.

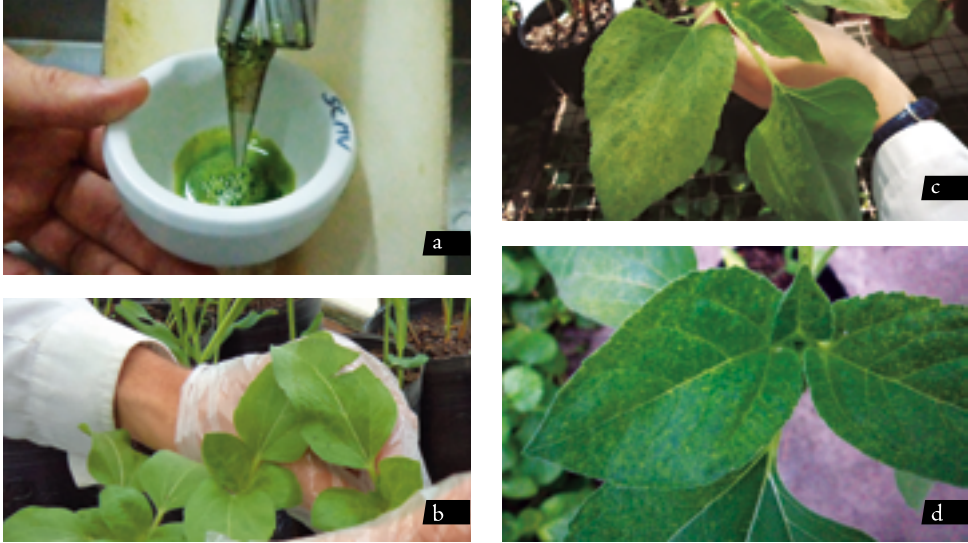
Para la transmisión mecánica con fines experimentales se recomienda como fuente de inóculo el uso de hojas jóvenes infectadas y, cuando sea posible, el de un tampón fosfato 0,01 M, pH 7.0 aunque el agua destilada funciona muy bien para muchos virus transmisibles por esta vía.

En los casos en los que las plantas presentan altas concentraciones de polifenoles que inactivan los virus, se puede suplementar el tampón fosfato con agentes reductores como ácido ascórbico, sulfito de sodio, β -mercaptoetanol

o agentes quelatantes como Na-DIECA. Así mismo, para plantas con altos contenidos de taninos como las rosáceas, se recomienda el uso de sustancias como cafeína, albumina de huevo o nicotina, que impiden la unión de los viriones a los compuestos taninos. También es posible en casos especiales, como cuando se inoculan virus que presentan una alta frecuencia de partículas desnudas (desprovistas de cápside) (por ejemplo, *Tobacco rattle virus* y *PMTV*), agregar inhibidores de nucleasas.

Por lo general, las plantas que se utilizan en las pruebas de transmisión mecánica hacen parte de las familias *Amaranthaceae*, *Chenopodiaceae*, *Cucurbitaceae*, *Leguminosae* y *Solanaceae*, dada su amplia susceptibilidad a diferentes virus, rápido crecimiento en malla o invernadero y facilidad de propagación. Casi siempre la inoculación se realiza sobre las primeras hojas completamente abiertas o sobre los

cotiledones (cuando sea el caso), y se recomienda el mantenimiento de condiciones moderadas de luz. El resultado de la inoculación (figura 82) corresponde a síntomas locales o sistémicos, tal como se indicó en el capítulo VI sobre sintomatología.



FOTOS: Margarita Jaramillo y Claudia Nome

{ 120 }

Figura 82. Procedimiento de inoculación mecánica del *Sunflower chlorotic spot virus* (sucsv) sobre plantas indicadoras. a. Maceración en presencia de tampón fosfato del tejido infectado por el sucsv; se utiliza un mortero y un cilindro cónico o pistilo; b. Inoculación de plantas indicadoras; c. Apariencia general de la planta inoculada luego de varios días de incubación; d. Síntomas locales (manchas cloróticas) y sistémicos (amarillamiento de venas secundarias) en las hojas inoculadas.

Transmisión por plantas parásitas

Es importante anotar que una forma adicional de transmisión de virus en plantas ocurre a partir de parásitas como *Cuscuta* spp. En ese caso, cuando los tallos de las plantas, sana e infectada, entran en contacto se genera un haustorio que utiliza la planta parasita para obtener los nutrientes del citoplasma de las células del hospedante, incluso de aquellas células del floema, con las que pueden establecer plasmodesmos con las células del haustorio (figura 83). De esta forma se puede lograr el paso eficiente de virus difíciles de transferir por otros medios. En general, se ha encontrado que los virus transmitidos por plantas parásitas no se propagan en los tejidos de las mismas, aunque existen notables excepciones como algunas cepas de CMV, que pueden infectar a *Cuscuta* spp.



FOTO: Javier Romero

Figura 83. Plantas de *Cuscuta* spp. utilizadas para la transmisión de virus en condiciones experimentales.





Ciclos de infección de los virus de plantas

El ciclo infectivo de los virus vegetales está muy influenciado por el tipo de ácido nucleico que compone el genoma de cada uno, por las estrategias que utilizan para la expresión de sus proteínas y por las restricciones que ofrece el hospedante al progreso de la enfermedad. Al inicio, la infección ocurre en las células y, a medida que aumenta el título viral y la consiguiente susceptibilidad del hospedante, se extiende a diferentes tejidos, órganos y, eventualmente, a otras plantas del cultivo o incluso a otros cultivos de una región. De esta manera, un evento que en principio opera a micro escala puede finalizar en una epifitía que implique importantes pérdidas para los agricultores y, en últimas, para las comunidades, provincias o incluso países enteros. Por esta razón, el entendimiento desde lo molecular del proceso infectivo viral hace parte integral del conocimiento que debe tener el técnico en el campo y por supuesto el fitopatólogo, pues se trata de la base sobre la que se deben sustentar las medidas de manejo de las enfermedades virales.

Un esquema general del ciclo infectivo de los virus vegetales se puede resumir así:

- Ingreso del virus a la célula hospedante susceptible
- Desensamblaje del virión
- Síntesis de mRNA o uso del genoma como mRNA (por ejemplo, en virus con +ssRNA)
- Traducción de proteínas virales (tempranas y tardías según del momento en que se producen en el ciclo de infección)
- Replicación del genoma viral
- Ensamblaje de los nuevos viriones
- Movimiento de virus a células adyacentes
- Movimiento sistémico del virus en la planta
- Transmisión vertical y horizontal del virus

La separación de los mencionados eventos es un ejercicio académico, pues varios de ellos pueden ocurrir de modo simultáneo o se presentan en un orden diferente del antes indicado (figura 84).

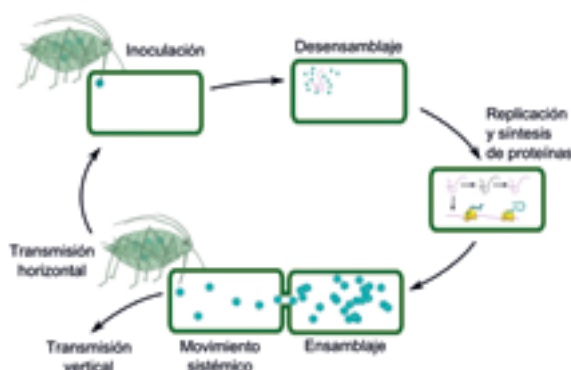


Figura 84. Ciclo infectivo de un virus de +ssRNA transmitido por un insecto vector. En este caso el RNA genómico actúa directamente como mRNA para algunos de sus ORF.
Fuente: autores

Ingreso del virión y desensamblaje

El ciclo infectivo comienza con el ingreso del virus a la célula que, como se expuso, ocurre de forma horizontal o vertical pues, a diferencia de los sistemas animales, para los virus de plantas no existen receptores de membrana ni procesos de endocitosis, dada la presencia de fuertes cutículas y paredes celulares en sus hospedantes.

Una vez en el interior de las células, el virión se desensambla como consecuencia de la desestabilización de las interacciones entre las proteínas de la cápside y el ácido nucleico viral en el citoplasma del hospedante. Hasta ahora se ha propuesto que dicho fenómeno ocurre como resultado de cambios en el pH citoplasmático que, para el caso del TMV, favorece el desensamble bidireccional y en forma cotraduccional; es decir, el extremo 5' del RNA viral se une a los ribosomas y, a medida que ellos sintetizan, las proteínas respectivas, van removiendo las subunidades de la cápside. Un proceso similar ocurre hacia el extremo 3', pero en este caso resulta de la replicación de la cadena -ssRNA, que hace que la replicasa viral desplace las subunidades capsídicas ubicadas en dicho extremo.

{ 124 }

Aún no es claro cómo ocurre este proceso para aquellos virus de RNA que requieren generar copias iniciales de mRNA (como virus de dsRNA, -ssRNA). En esos casos, se cree que la transcripción ocurre al interior de los viriones con ayuda de las replicasas preformadas antes del desensamblaje, probablemente como una estrategia de protección frente a las nucleasas celulares y a los mecanismos de defensa mediados por iRNA. De esta forma, el mRNA es enseguida traducido en el citoplasma, lo que evita su degradación temprana.

Para virus de dsDNA, como los caulimovirus, y de ssDNA, como los geminivirus, el virión debe ser movilizado al núcleo de las células para dar paso a la transcripción del mRNA (para virus de ssDNA, primero se requiere la replicación que dé lugar a dsDNA) por acción de las DNA polimerasas del hospedante. Se cree que este desplazamiento esta

mediado por señales de localización nuclear ubicadas en las proteínas de la cápside; sin embargo, el proceso del desensamblaje no ha sido dilucidado por completo para tales virus.

Síntesis de mRNA

Cerca del 65% de los virus de plantas poseen +ssRNA como genoma, por lo que parte de él, o la totalidad, puede actuar directamente como mRNA (por ejemplo, en virus que producen poliproteínas). En el caso de los virus de dsRNA y -ssRNA, la síntesis inicial de mRNA ocurre por acción de replicasas con dominios de RdRp —helicasa y metiltransferasa— que, además, llevan a cabo la replicación del genoma (figura 85).

La transcripción y replicación pueden ocurrir en forma separada. La primera se da habitualmente en fases tempranas; la segunda, ocurre en la fase tardía, sin embargo, dependiendo del genoma, puede existir traslape funcional y temporal entre ambos procesos.

En los virus de DNA, la transcripción ocurre en el núcleo de las células por acción de la RNA polimerasa II. Así, por ejemplo, en caulimovirus, el DNA viral tiene dos regiones promotoras (19S y 35S) con secuencias similares a la caja TATA y regiones terminadoras que son reconocidas por esta polimerasa. Este proceso genera dos transcritos poliadenilados y con caperuza, denominados 19S y 35S; este último se utiliza como base de la replicación del genoma viral. Para virus con genomas de ssDNA, la transcripción opera en forma bidireccional a partir de una región intergénica de cerca de 300 nt, ubicada en inmediaciones del origen de replicación, gracias a que allí se ubican dos promotores de la RNA polimerasa II.

Traducción de proteínas virales

La expresión de las proteínas virales puede ser un proceso bastante complejo para genomas con alta densidad de genes, traslape de ORF y regiones multifuncionales (como secuencias reguladoras, de silenciamiento, codificantes).

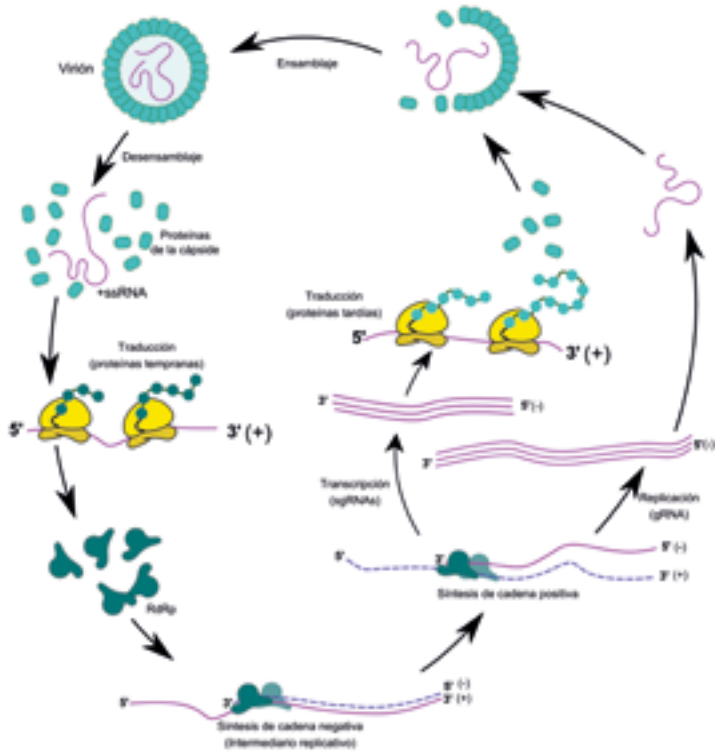


Figura 85. Esquema general de la actividad de las replicasas virales. En este caso, una rDp en un virus con +ssRNA como genoma que presenta como principal estrategia de expresión la generación de RNA subgenómicos (sgRNA). Basado en: ViralZone c2011

{ 125 }

Los detalles sobre los mecanismos de traducción se desconocen para una gran cantidad de virus, por lo que en la actualidad siguen siendo un tema de intenso estudio. Debido a los procesos moleculares únicos de los virus (como retrotranscripción, genomas de dsRNA y -ssRNA, desensamblaje coreplicativo, silenciamiento de genes por iRNAs, etc.), las evaluaciones respectivas requieren un distanciamiento de los paradigmas moleculares utilizados para estudiar sistemas eucarióticos o procarióticos. Por tanto, en el estudio de la virología molecular resulta necesario evitar concepciones predefinidas e inamovibles, como por ejemplo la linealidad y regularidad funcional de los genomas; por el contrario, se deben abordar los genomas virales como grupos de secuencias multidimensionales, que interactúan entre sí y con otros ácidos nucleicos, proteínas del hospedante y de los vectores, dependientes del gobierno de mecanismos que aún no se han dilucidado.

El hospedante eucariótico tiene una serie de restricciones que dirigen los sistemas de transcripción y traducción. Incluyen: a) la naturaleza monocistrónica del mRNA celular, es decir, cada mRNA codifica para un polipéptido; b) la presencia de caperuzas de GTP metiladas en el extremo 5' del mRNA y de colas de Poli-A en el 3', que actúan para facilitar la unión del transcrito con los ribosomas y regular los niveles de traducción, respectivamente; c) el inicio de la traducción a partir de codones AUG precedidos por regiones no traducidas en el extremo 5' (5'UTR), que afectan la estabilidad y eficiencia del proceso; d) la presencia de regiones terminadoras de la traducción, gracias a la ocurrencia de codones de finalización (*stop codons*) y de regiones no traducidas en el extremo 3' (3'UTR) que originan asas y estructuras secundarias que inducen la separación de las subunidades ribosómicas.

Ya que los virus son ante todo parásitos del proceso de traducción en sus células hospedantes, han debido adaptar sus procesos genéticos a dichas restricciones y en su evolución han sido en especial eficientes al manipular los ORF de sus genomas, de manera que a partir de las mismas secuencias pueden producir diferentes proteínas. En la figura 86 se presenta un esquema general del concepto de ORF y en la figura 87 un resumen general de la estructura básica de los genes eucarióticos y de sus procesos genéticos.

La traducción eucariótica ocurre en tres pasos: iniciación, elongación y terminación, que dependen de múltiples interacciones entre los mRNA, tRNA y rRNA y de ellos con proteínas conocidas como factores de traducción. En la iniciación, el mRNA eucariótico

maduro se asocia por el extremo 5' a la subunidad pequeña del ribosoma (40S) en un proceso mediado por la interacción entre la metilguanosa de la caperuza y el factor de traducción eIF4F (*Eukaryotic Initiation Factor 4F*). Luego, la subunidad pequeña del ribosoma, en asocio con diversos factores de traducción y met-tRNA_i, inicia el proceso de rastreo del mRNA en busca del codón de inicio (AUG), que permitirá el ensamblaje de la subunidad grande (60S), para así conformar un ribosoma 80S funcional. Se da inicio entonces al proceso de elongación en el cual cada codón del mRNA se alinea progresivamente con la región anticodón del aa-tRNA correspondiente. La elongación continúa hasta el encuentro de un codón de terminación (UAA, UAG o UGA), que es la señal que marca la disociación del ribosoma y

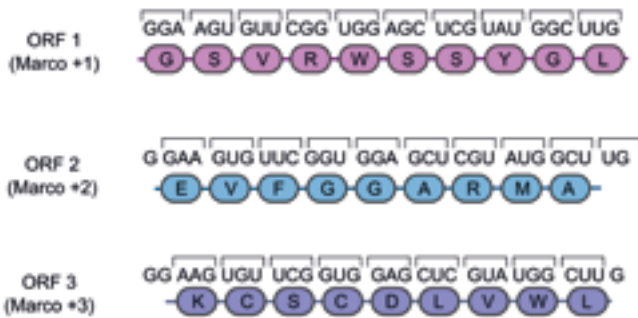


Figura 86. El concepto de *open reading frames* (ORF). Los marcos de lectura +1, +2 y +3 se refieren a la posición dentro del codón que da inicio al proceso de traducción de proteínas.

Basado en: Shors 2013

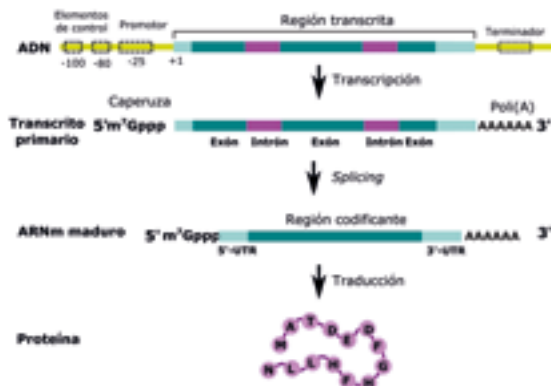


Figura 87. Estructura general del gen eucariótico y del proceso de expresión genética en células vegetales. Los virus han ajustado sus genomas y mecanismos genéticos a las características estructurales y funcionales de estos procesos en sus células hospedantes.

Basado en: Shors 2013

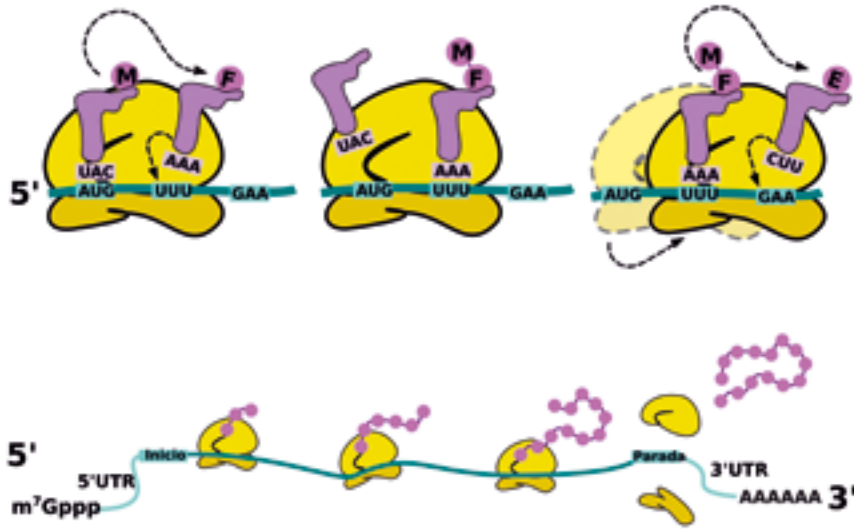


Figura 88. Proceso general de síntesis de proteínas (traducción) en las células eucarióticas. El ensamblaje del ribosoma eucariótico 80S da inicio a un proceso en el que interactúan tripletas de nucleótidos del mRNA (codones) con los anticodones de los aa-tRNA, lo que da lugar a la generación de enlaces peptídicos entre los aminoácidos respectivos y a la elongación de los polipéptidos hasta que se presente el codón de parada, sitio en el cual se desensamblan los ribosomas y se libera el polipéptido resultante.

Fuente: autores

la consiguiente liberación del polipéptido resultante. Este producto inicial puede estar sujeto a diferentes modificaciones postraduccionales como glicosilaciones, fosforilaciones y clivaje de aminoácidos, entre otras (figura 88).

Se expuso que los virus deben acoplar la traducción de sus mRNA a los mecanismos presentes en las células del hospedante, en especial si se tiene en cuenta que sus genomas son típicamente policistrónicos, es decir, que poseen diferentes ORF. Por esto, según las condiciones descritas de la traducción de la célula eucariótica, todos los ORF no tendrían posibilidad de ser expresados, con excepción del más cercano al extremo 5' del mRNA. Por supuesto esto no ocurre, pues los virus utilizan diferentes modificaciones estructurales y funcionales del mRNA, así como una serie de estrategias dirigidas a vencer las restricciones del sistema de transcripción y traducción eucariótico, habilidades que, por lo demás, hacen parte fundamental de los criterios taxonómicos utilizados para la clasificación de los virus.

Entre las modificaciones del mRNA viral se destacan las que van dirigidas al reconocimiento del ribosoma para dar inicio a la traducción, como son la utilización de caperuzas similares a las del mRNA eucariótico, la presencia de sitios internos de entrada de ribosomas (IRES) en las regiones 5'-UTR, que favorecen la unión de la subunidad 40S al mRNA, o la ocurrencia de vpgs (figura 89). Se ha encontrado que la asociación de vpgs al extremo 5' de los RNA virales no solo es importante para el inicio de la traducción al unirse al eIF4, sino que también lo es para la replicación del genoma viral.

En forma similar a los mRNA eucarióticos, muchos virus poseen en sus extremos 3' colas de Poli-A que se cree que operan en la regulación de los niveles de traducción de los mensajes y además interactúan con los extremos 5' para conformar estructuras pseudocirculares que permiten la unión de proteínas de unión a Poli-A (PABP) con el factor de iniciación eIF4G, lo que representa una señal celular de confirmación de la integridad del mRNA, que da inicio a la traducción.

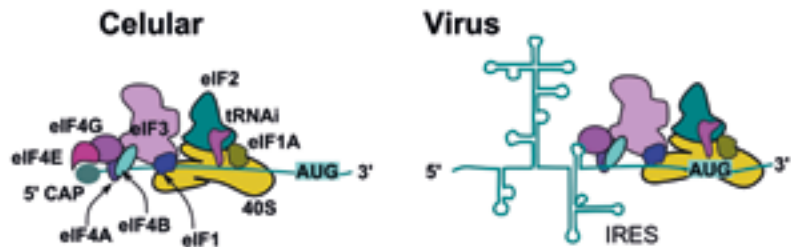


Figura 89. Proceso de ensamblaje del complejo de iniciación traduccional en los ribosomas eucarióticos y su comparación con la ocurrencia de estructuras secundarias en el genoma de virus de RNA. En este caso se presentan sitios internos de unión (IRES) de factores de inicio que dan lugar a la traducción de ORF, ubicados en sitios diferentes al extremo 5' del genoma o transcrito viral. Basado en: ViralZone c2011

Finalmente, existen muchos virus de plantas que producen mRNA carentes de caperuza y colas de Poli-A (por ejemplo, BYDV), y que en su lugar, emplean potenciadores traduccionales (*enhancers*) ubicados en la región 3' del genoma, a los que se unen factores de traducción como eIF4F.

Se han registrado por lo menos doce estrategias básicas de expresión de genes virales que pueden presentar

diversas modificaciones (se han documentado al menos treinta variaciones), lo que posibilita no solo la expresión de todos los ORF, sino también su regulación (tabla 8). De esta forma, una especie viral puede utilizar una sola estrategia, o combinar varias, para conseguir la traducción de todos sus ORF. Por ejemplo los bromovirus emplean las estrategias de sgrna y genoma multipartita, mientras que los tobamovirus emplean sgrna y lectura continua (*readthrough*).

{ 128 }

Tabla 8. Características del genoma y estrategias de expresión de genes utilizadas en algunos géneros de virus de plantas con genomas de +ssRNA

Género	Extremo 5'	Extremo 3'	Genoma multipartita	sgrna	Lectura continua	Cambio en el marco	Poliproteína
Bromovirus	Cap	tRNA	3	1			
Cucumovirus	Cap	Conser- vada entre segmentos	3	1			
Nepovirus	Vpg	Poli-A	2				Ocurre
Potyvirus	Vpg	Poli-A	1				Ocurre
Closterovirus	Cap	OH	1	7-10		+1	
Crinivirus	Cap	OH	2 (3)	Ocurre		+1	
Polerovirus	VPg	OH	1	Ocurre	Ocurre	Ocurre	
Tobamovirus	Cap	tRNA	1	2	Ocurre		
Furovirus	Cap	tRNA	2	Ocurre	Ocurre		
Marafivirus	Cap		1	Ocurre			Ocurre
Pomovirus	Cap	tRNA	3	Ocurre	Ocurre		

Fuente: Hull 2004

Las estrategias que emplean grupos específicos de virus se pueden encontrar en detalle en la literatura científica especializada, pero a continuación se describen de manera genérica algunas de las más importantes para los virus de plantas.

Poliproteína

En esta estrategia, el genoma viral tiene un único ORF que codifica para una poliproteína que da origen a varias proteínas funcionales, después de un procesamiento postraduccional mediado por proteasas.

Los potyvirus son el grupo más relevante en cuanto al uso de esta estrategia, con un ORF que codifica para una poliproteína de cerca de 3.000 aa, clivada por tres proteasas virales (dos serín-proteasas y una cisteín-proteasa) en 10 proteínas maduras, aunque la lisis ocurre con diferentes tasas, lo que genera una amplia gama de productos intermedios (figura 90). En apariencia, esta estrategia es ineficaz, pues independientemente del momento del ciclo infectivo, requiere la traducción de todas las proteínas virales, lo que genera la acumulación de polipéptidos no funcionales en las células y las consecuentes inclusiones citoplasmáticas propias

de este grupo de virus. Pese a lo anterior, los potyvirus conforman el grupo más numeroso y uno de los más limitantes para la agricultura mundial.

Otros virus que utilizan parcial o totalmente esta estrategia son algunos miembros de los géneros *Bymovirus*, *Comovirus*, *Tymovirus*, *Closterovirus*, *Marafivirus* y *Polerovirus*.

RNA subgenómicos (sgrna)

Esta estrategia consiste en la síntesis de RNA de tamaño variable que dan origen a una familia de sgrna con extremos 5' diferentes y 3' coterminales, lo que permite que ORF ubicados después del codón de inicio del primer ORF puedan ser traducidos. Por lo general, las copias de sgrna se realizan a partir de promotores internos de transcripción ubicados en la cadena negativa sintetizada como intermediario replicativo (IR). Ejemplos de virus que utilizan esta estrategia son el CTV, en donde se producen hasta 10 sgrna y el TMV, además de { 129 } diferentes especies de los géneros: *Bromoviridae*, *Closterovirus*, *Furovirus*, *Luteovirus*, *Polerovirus*, *Potexvirus*, *Sobemovirus*, *Tenuivirus*, *Tobamovirus*, *Tobravirus* y *Tospovirus*, entre otros (figura 91)

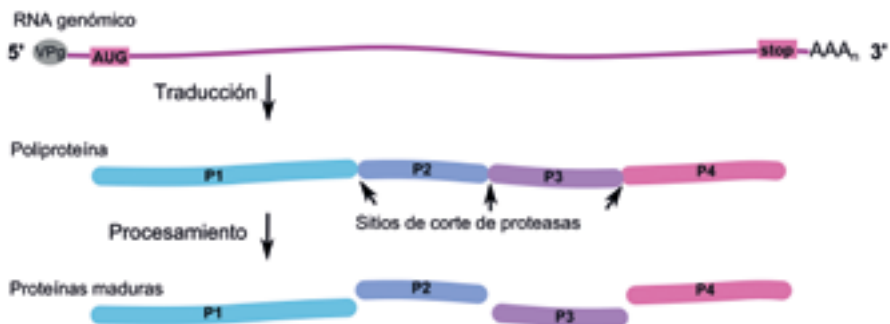


Figura 90. Estrategia de expresión de poliproteína en la que un gran ORF presente en el genoma viral da origen a una multiproteína que es posteriormente clivada por proteasas virales para generar las proteínas maduras y funcionales del virus.

Fuente: autores

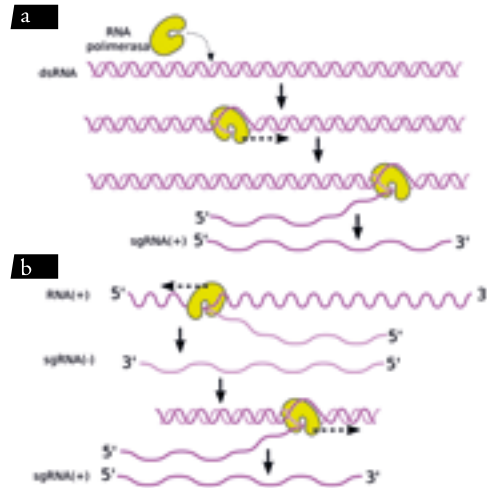


Figura 91. Producción de RNA subgenómicos como una estrategia de virus de dsRNA (a.) y de +ssRNA (b.) para la expresión de ORF no ubicados en el extremo 5' del genoma viral.

Fuente: autores

Genomas multipartitas

{ 130 } Esta estrategia permite la ubicación de los codones de inicio en los extremos 5' de diferentes segmentos genómicos, lo que da lugar a virus con genoma multipartita, que pueden ser encapsidados individualmente, es decir, virus multicomponente (muy frecuentes) o en una sola partícula (menos frecuentes).

Esta división de segmentos genómicos ocurre tanto en virus de DNA como de RNA (ssRNA y dsRNA); existen al menos 33 géneros de virus que la utilizan. Ejemplos del primer caso (multicomponente) son los miembros de los géneros *Begomovirus*, *Partitivirus*, *Bromovirus*, *Tobravirus*, *Furovirus*, *Pomovirus*, *Bymovirus* y *Crinivirus*, mientras que en los *Tospovirus*, *Oryzavirus*, *Fijivirus* y *Phytoreovirus*, la encapsidación de múltiples segmentos genómicos ocurre en una sola partícula (figura 92).

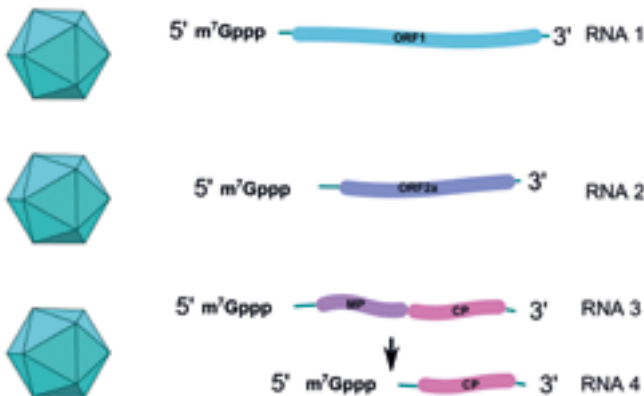


Figura 92. Virus con genoma multipartita consistente de tres segmentos encapsidados en partículas independientes. Este virus multicomponente produce además un sgrNA (RNA 4) que se incorpora en conjunto con el RNA 3 en una misma partícula.

Fuente: autores

Splicing *alternativo*

En virus de DNA como los caulimovirus (dsDNA) y geminivirus (ssDNA) ocurre el *splicing* (corte y empalme) del mRNA en regiones internas no codificantes, lo que origina diferentes versiones de transcritos. Así, por ejemplo, en los caulimovirus se presenta el *splicing* de intrones en el RNA 35S, lo que permite que pequeños ORF se ubiquen en el marco de lectura correcto. En este caso, las regiones adyacentes de dichos intrones presentan secuencias conservadas de reconocimiento de corte-empalme propias de las células vegetales, lo que da indicios de altos niveles de coevolución entre estos virus y sus hospedantes.

Traducción ambisentido

Virus como los tospovirus y tenuivirus utilizan la estrategia ambisentido para codificar para proteínas a partir de ORF ubicados en ambos sentidos (*virion-sense* [vs]; *complementary-sense* [cs o vc]) (figura 93).

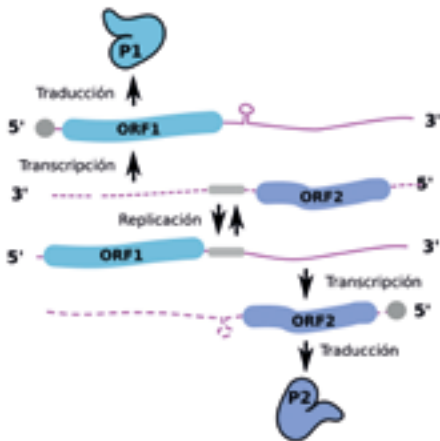


Figura 93. Representación de un genoma ambisentido en el cual ambas cadenas, vs (5'-3') y vc (3'-5'), codifican para proteínas virales. En estos virus es frecuente encontrar estructuras secundarias tipo asas que actúan como señales de finalización de la traducción.

Fuente: autores

Iniciación interna de la traducción

En virus carentes de caperuza, se presentan IRES en las regiones 5'-UTR que se encargan de dirigir el acople del mRNA con los ribosomas y dar inicio a la traducción del ORF ubicado más cerca al extremo 5'. Estas regiones, dada su estructura secundaria, sirven de sitios de anclaje de subunidades ribosómicas y de diferentes factores de inicio, y su presencia permite la rápida expresión del primer ORF en virus de +ssRNA (figura 89). Esta estrategia es frecuente en algunos tobamovirus, luteovirus y nepovirus, entre otros.

Codones de inicio goteantes (leaky scanning)

Algunos genomas virales presentan varios codones de inicio AUG en las proximidades del extremo 5', ubicados de modo característico en contextos subóptimos y óptimos para su lectura por parte de la subunidad 40S ribosómica. Por esto, dichos virus pueden generar diferentes proteínas a partir de un mismo segmento de mRNA con regiones N-terminal diferentes y C-terminal idénticas. Dicha estrategia facilita la sobreposición o el traslape de ORF virales (*overlapping*), lo cual es una de las propiedades que permite la ocurrencia de genomas virales altamente compactos. Algunos ejemplos de virus que utilizan esta estrategia son el Cowpea mosaic virus (CPMV) y el PLRV, así como otros luteovirus, tymovirus, polerovirus, enamovirus y tobusvirus (figura 94).

Cambio de vía traduccional (translational shunt)

Esta estrategia opera en virus con ORF pequeños (ORF), es decir, aquellos que presentan menos de 50 codones. Se caracteriza por la presencia de sitios donantes y receptores del escaneo de ribosomas que evitan la lectura de ORF que no requieren ser traducidos en un momento determinado. Esta situación ocurre típicamente en los caulimovirus en cuyo RNA 35S aparecen múltiples ORF (hasta 19) (figura 95).

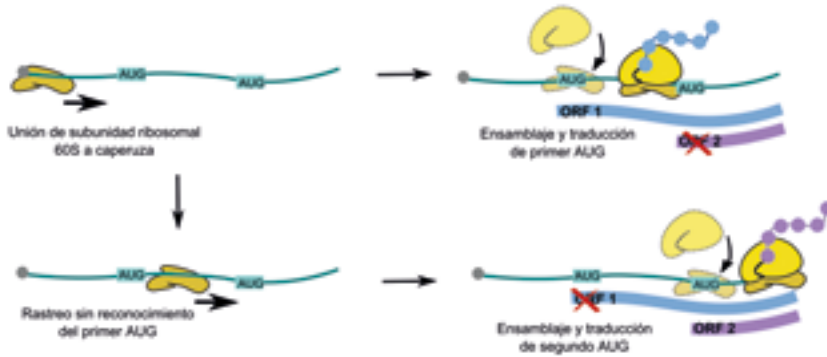


Figura 94. Estrategia de codones de inicio goteantes (*leaky scanning*) para la expresión de diferentes proteínas virales a partir de una misma secuencia. En este caso un codón de inicio débil o goteante (por ejemplo, ACG o AUG en el contexto de la secuencia de Kozak) es ignorado por el complejo de inicio ribosomal, de manera que la subunidad 40S continúa con la búsqueda de codones de inicio posteriores.

Fuente: autores

Supresión de codones de finalización – lectura continua (readthrough)

En algunas circunstancias, la presencia de codones de finalización puede no conducir a la terminación de la síntesis de proteínas, pues los ribosomas continúan su lectura hasta un segundo codón de finalización ubicado más adelante, lo que da origen a dos proteínas coterminales en sus extremos amino.

Esta estrategia es otro ejemplo de cómo los virus pueden aprovechar los mensajes traslapados. Funcionalmente,

se posibilita por la presencia de tRNA supresores, capaces de afectar la unión del complejo de finalización en codones correspondientes tipo ámbar (UAG). También puede participar en esta estrategia el codón ópalo (UGA), pero no el ocre (UAA), denominados así por sus diferencias en la eficiencia para la terminación de la traducción (UAA > UAG > UGA).

Para los virus de plantas se acepta que la lectura continua por codones débiles de finalización opere con tasas entre 1 y 10%, aunque dicho proceso también lo modula el contexto de secuencias en el que se ubica dicho

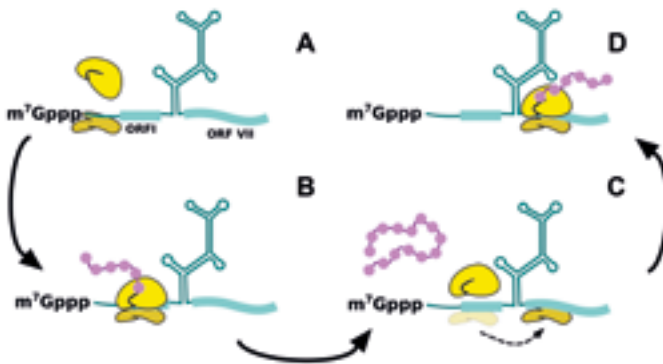


Figura 95. El cambio de vía traduccional (*Ribosomal shunting*) es una estrategia de expresión viral en la que la traducción comienza con el rastreo de pequeños ORF para luego pasar a ORF funcionales ubicados después. Este mecanismo depende de la presencia de caperuzas en los mRNA y de grandes regiones internas con estructuras secundarias complejas (*large internal leader regions*).

Fuente: autores

codón. Los factores de transmisión de la cápside (*transmission helper factors*) incorporados en las cubiertas de algunos virus (por ejemplo, PMTV) y los diferentes dominios de las replicasas (como Met, Hel, RdRp) son dos muestras de procesos en los que se requiere la presencia de ciertos dominios funcionales solo en una proporción de las proteínas sintetizadas y que, por tanto, utilizan la estrategia de lectura continua. Este proceso ocurre en algunos miembros de los géneros *Tobamovirus*, *Tobravirus*, *Tombusvirus*, *Carmovirus*, *Furovirus*, *Luteovirus*, *Polerovirus*, *Enamovirus* y *Benyvirus* (figura 96).

gracias a que el ribosoma ignora el codón de finalización y retrocede (-1) o avanza (+1) una posición para dar reinicio a una nueva traducción en otro marco de lectura.

La situación descrita genera una proteína coterminale en el extremo amino pero diferente en el carboxilo. La proporción de estas proteínas respecto a aquellas codificadas por el ORF convencional se encuentra entre el 1 y 5 % para virus de plantas. Esta estrategia por lo general involucra la replicasa viral de miembros de géneros como *Closterovirus* (+1), *Dianthovirus*, *Enamovirus* y *Luteovirus* (-1).

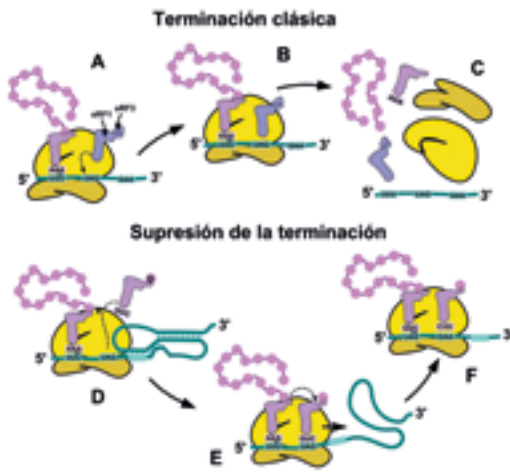


Figura 96. La estrategia de lectura continua (*readthrough*) o de supresión de terminación depende de la presencia de codones de finalización débiles que, en presencia de un contexto de secuencias específico, los usan algunos virus para dar lugar a proteínas similares en su extremo amino y diferentes en el carboxilo.

Fuente: autores

Para el caso de la lectura -1, es necesaria la presencia de una secuencia deslizante (*slippery sequence*) que es un heptámero formado por nucleótidos repetitivos (xxxxyyz, donde y es A o U) seguidos del codón de finalización, así como también de una estructura con forma de horquilla que favorece la pausa del ribosoma. De esta manera, la mayoría de ribosomas leen xxxxyyz y pasan al codón de finalización, lo que da origen a la proteína en marco (P1). Sin embargo, algunos ribosomas en presencia de la estructura secundaria, harán la pausa y reiniciarán la lectura en la fase xxxxyz, con lo que escapan del codón de finalización y generan la proteína de fusión (P1+2) (figura 98).

{ 133 }

Cambio en el marco de lectura (frameshift)

Otro mecanismo en el que dos proteínas pueden comenzar a sintetizarse a partir del mismo codón de inicio 5'AUG es mediante el cambio en el marco de lectura, justo antes de que se presente el codón de finalización, de manera que se origina una segunda proteína de mayor tamaño (figura 97). Esto ocurre

Replicación de virus

La replicación de los virus de RNA depende de replicasas virales que por lo general poseen tres dominios funcionales: RNA-dependiente RNA-polimerasa (RdRp), Helicasa (Hel) y Metiltransferasa (Met). La RdRp cataliza la síntesis de RNA al usar como molde el RNA viral y característicamente presenta motivos conservados como el Gly-Asp-Asp (GDD). Además, se han identificado

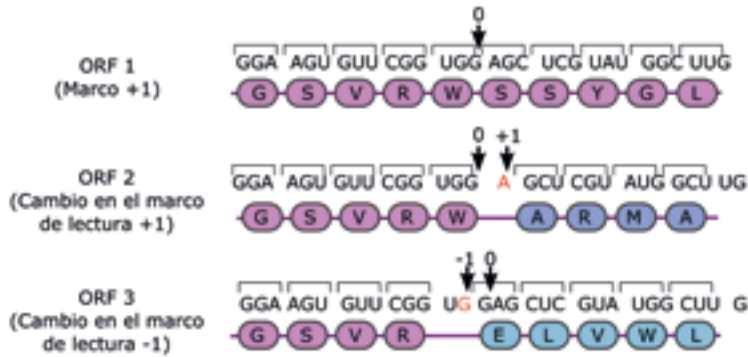


Figura 97. Esquema representativo del efecto del cambio de lectura +1 y -1 sobre los polipéptidos, como resultado de la estrategia de expresión viral denominada *frameshift*.

Basado en: Shors 2013

al menos otros ocho motivos en las regiones codificantes de RdRp, que han dado lugar a la división de los virus con base en sus replicasas en tres supergrupos denominados: 1) Picornavirus (-like), 2) Carmovirus (-like) y 3) Alphavirus (-like).

Los miembros del primer grupo (por ejemplo, *Comovirus*, *Polerovirus*, *Potyvirus* y *Sobemovirus*) se caracterizan porque es usual que presenten un solo segmento genómico provisto de vpgs en el extremo 5' y utilizar la estrategia de expresión de poliproteína. Los miembros de los grupos 2 (como *Carmovirus*, *Luteovirus* y *Tombusvirus*) y 3 (*Alfavirus*, *Bromovirus*, *Closterovirus*, *Potexvirus*, *Tobamovirus*, entre otros), por su parte,

tienen de uno a varios segmentos genómicos, con el RNA provisto de caperuza y ORF traducidos individualmente.

Las helicasas virales son nucleósido-trifosfato fosfatasas dependientes de polinucleótidos (NTP) que poseen como actividad fundamental el desplazamiento de la hebra sintetizada en el intermediario replicativo, a partir de la remoción de la estructura secundaria, pues de otra forma se impediría el avance de la replicación. Se cree que las helicasas virales incrementan la fidelidad de la copia RNA-RNA y son fundamentales en virus con genomas de >6 kb, dada la falta de sistemas de reparación o corrección de errores en las replicasas virales. Existen helicasas

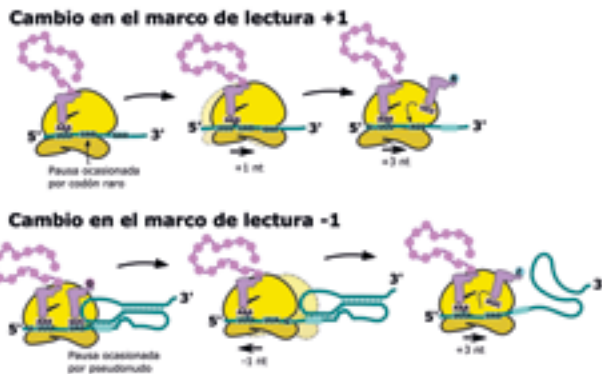


Figura 98. Mecanismos que operan durante la traducción de ORF virales como resultado de la estrategia de *frameshift* +1 y -1. Se puede observar que el cambio de lectura -1 juega un papel fundamental la presencia de un pseudonudo estructural que impide la llegada del tRNA con el anticodón correspondiente e induce el regreso del ribosoma al codón anterior en una posición.

Basado en: Shors 2013

3'-5' o 5'-3', dependiendo de sus requerimientos de cadenas sencillas en dichos extremos del genoma, y en general se han clasificado en diferentes grupos con base en afinidades filogenéticas y presencia de motivos conservados: 1) Alpha-like (*Bromovirus*, *Tobamovirus*, *Tobravirus*, *Cucumovirus*, *Closterovirus*); 2) *Potyviridae* (*Bymovirus*, *Potyvirus*) y 3) *Comoviridae* (*Comovirus*, *Sequivirus*).

La función de la metiltransferasa es fundamental en replicasas de virus que poseen caperuzas de metil-guanosina en sus extremos 5'. Esta actividad consiste en la metilación del GTP en la posición 7 de la guanina, que usa S-adenosil-metionina como donante.

En los casos de virus de plantas de ssDNA, no se han encontrado polimerasas de origen viral, por lo que se asume que utilizan las Dddp (DNA-dependent DNA polymerase) del hospedante, mientras que aquellos virus de dsDNA que se replican por reverso-transcripción, es decir, a partir de un intermediario de RNA, utilizan la enzima Rddp (RNA-dependent DNA polymerase) también conocida como RT (retro-transcriptasa), que da lugar a una doble cadena de DNA copia (cDNA).

Replicación de virus de +ssRNA

La replicación de los virus de +ssRNA ocurre en el citoplasma de las células infectadas, casi siempre en estrecha asociación con sistemas membranosos en apariencia específicos para cada grupo de virus (por ejemplo, retículo endoplasmático, mitocondrias, vacuolas, membrana externa del cloroplasto, etc.). En estos virus ocurre la síntesis de la cadena negativa a partir del +ssRNA genómico, de tal manera que la cadena recién formada (-ssRNA) sirve de molde para las nuevas copias de +ssRNA. En muchos virus de plantas, la cadena de -ssRNA también se utiliza como base para la síntesis de sgrNA que, como se indicó, tendrán extremos 5' truncados y 3' idénticos. Para que ocurra la síntesis del -ssRNA, se requiere la unión de la Rddp al extremo 3' del molde de +ssRNA, específicamente en secuencias señal ubicadas en las

regiones 3'-UTR, que incluyen los pseudo-trNA que presentan diferentes virus de plantas. Así mismo, son necesarias secuencias de control en las regiones 5'-UTR que sirven de confirmación de la integridad estructural del genoma viral.

Durante el proceso de replicación de los virus con +ssRNA se presentan tanto formas replicativas (RF) como intermediarios replicativos (IR). Las primeras las constituyen dúplex de RNA (+/-) como resultado de la síntesis inicial de las cadenas negativas, mientras que las últimas se componen de un molde de -ssRNA unido a diferentes cadenas de +ssRNA (figura 99).

Se han encontrado varias proteínas del hospedante asociadas a los complejos de replicación de virus como el TMV, que incluyen factores de traducción como eIF3, lo que seguramente está relacionado con la estrecha coordinación que debe tener la replicación y la expresión de proteínas en el ciclo de infección viral.

Replicación de virus de -ssRNA

Típicamente, los genomas de los virus de -ssRNA forman complejos de ribonucleoproteínas (RNP) que incluyen proteínas de la cápside y una Rddp preformada. La replicación en estos virus ocurre a partir de un molde de +ssRNA, previa síntesis del genoma de -ssRNA (figura 100). Los genomas de estos virus con regularidad poseen secuencias complementarias en sus extremos, que dan origen a estructuras pseudocirculares, fundamentales para la replicación y expresión de sus proteínas; algunos de los virus se pueden también replicar en las células de sus insectos vectores. En el caso de los rhabdovirus de plantas, la replicación ocurre en viroplasmas ubicados en el citoplasma (*cytorhabdovirus*) o en el núcleo (*nucleorhabdovirus*), lo que genera, en ambos casos, viriones provistos de membrana externa a partir de la gemación del retículo endoplasmático o de la membrana interna nuclear, respectivamente. De modo similar, en el caso de los tospovirus, las membranas externas se generan por gemación de las membranas del aparato de Golgi.

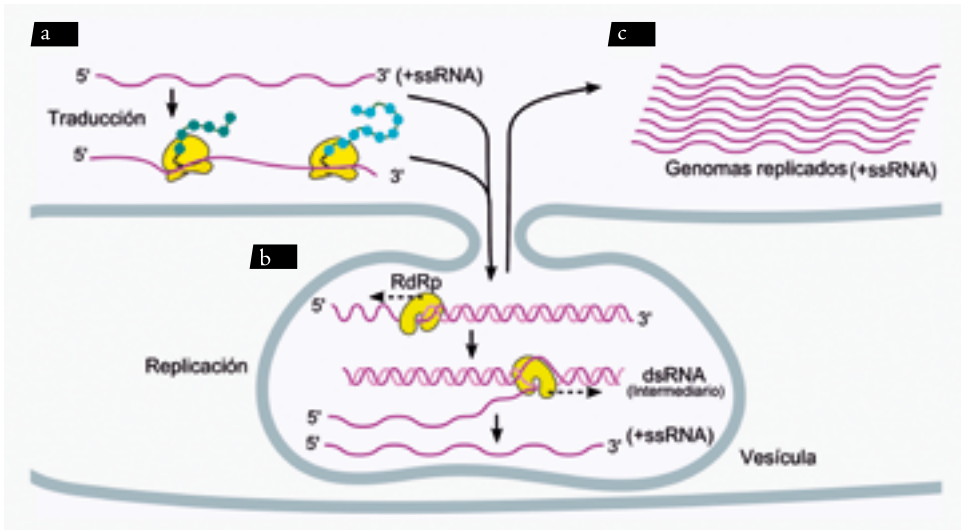


Figura 99. Diagrama del proceso de replicación de virus con genomas de +ssRNA. a. Se observa que en este caso la replicasa viral primero se sintetiza como resultado de la traducción de una porción del genoma viral; b. Su acción opera al interior de una vesícula inducida en el citoplasma de la célula hospedante, como una estrategia para evitar la degradación de las formas e intermediarios replicativos de doble cadena; c. De esta forma se generan múltiples copias del genoma viral de +ssRNA.

Fuente: autores

{ 136 } *Replicación de virus de dsRNA*

El mecanismo de replicación en virus de dsRNA de plantas, como los fijivirus, phytoreovirus y oryzavirus es, en general, poco conocido. Estos virus se replican tanto en las plantas hospedantes como en sus vectores en sitios específicos (viroplasm) del citoplasma. Por analogía con los reovirus animales, se considera que inicialmente la cadena negativa del dsRNA sirve de molde para la síntesis de mRNA por acción de la RdRp viral, preformada en las partículas virales. De esta forma, los mRNA son liberados al citoplasma para su traducción y, cuando se ha generado una alta cantidad de proteínas virales, las copias completas de +ssRNA son empacadas en partículas subvirales (*inner core*), para continuar con el ensamblaje de los viriones (por ejemplo, matriz, cápside, RdRp); así se da comienzo a la síntesis de las cadenas negativas que reconstituirán los genomas de dsRNA.

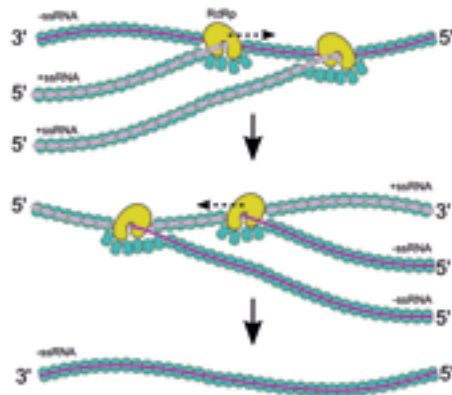


Figura 100. Diagrama del proceso de replicación de virus con genomas de -ssRNA. Se puede observar la ocurrencia de ribonucleoproteínas filamentosas y de cómo se generan copias de +ssRNA e intermediarios replicativos de dsRNA que servirán, a su vez, de molde para la síntesis por parte de la replicasa viral de múltiples copias del genoma de -ssRNA.

Fuente: autores

Replicación de virus de dsDNA

Tal como se ha indicado, los virus de dsDNA de plantas utilizan como mecanismo de replicación la retrotranscripción, pues hasta el momento no se ha encontrado que empleen polimerasas de tipo ddpp, como sí lo hacen diferentes grupos de virus de animales (como *Papillomavirus*, *Poxvirus*, entre otros). Entonces, la replicación de tales virus ocurre en la vía $\text{DNA} \rightarrow \text{RNA} \rightarrow \text{DNA}$ y, por tanto, son denominados como pararetrovirus.

El proceso en cuestión ocurre en dos fases: una nuclear, cuando el DNA viral es transcrito por acción de la ddrp (DNA-dependiente RNA-polimerasa) del hospedante, y una fase citoplasmática en la que dichos RNA son reverso-transcritos por la RT viral. Esta enzima también tiene actividad de DNA polimerasa y de RNasa H, que permite la remoción del RNA en el híbrido replicativo RNA:DNA, lo que da pie a la síntesis de la segunda cadena de DNA (cdNA).

En forma particular, la replicación de los caulimovirus comienza cuando el dsDNA viral, que tiene discontinuidades (*gaps*) (por ejemplo, D1 y D2), ingresa al núcleo celular y esas discontinuidades las sellan polimerasas del hospedante para formar moléculas completas de dsDNA. Las moléculas citadas se asocian con histonas y dan lugar a minicromosomas que, a su vez, sirven de molde para que la RNA Pol II realice la transcripción de dos tipos de RNA: 19S y 35S.

Una vez poliadenilados en sus extremos 3', los RNA migran al citoplasma para generar la segunda fase del proceso, que ocurre por lo común en cuerpos de inclusión. El RNA 19S corresponderá al mRNA del gen VI responsable de las proteínas del cuerpo de inclusión, mientras que el RNA 35S servirá de molde para la síntesis del DNA genómico viral, cuando se una un metionil-trNA con su extremo 3' en la cadena α , justo después de la discontinuidad D1. De esta forma, la RT comienza la síntesis de la primera cadena (-) de DNA hasta alcanzar el extremo 5' del molde, para dar pie a la acción de remoción del RNA

por la RNasa H y, finalmente, completar la síntesis correspondiente al molde del extremo 3' del RNA 35S, al eliminar el trNA y generar la discontinuidad D1 en la cadena de DNA recién formada. La síntesis de la segunda cadena de DNA (+) comienza, entonces, para lo que se utilizan como *primer* dos regiones de Poli-U remanentes del RNA, lo que deja también dos discontinuidades (D2 y D3) en dicha cadena (figura 101).

Replicación de virus de ssDNA

Los virus de plantas con ssDNA hacen parte de la familia *Geminiviridae*, que contiene en mayor proporción especies con genomas monopartita, aunque algunos son bipartita (como los begomovirus). Es característico que estos virus posean genomas pequeños que no contienen un gen codificante para su propia polimerasa, por lo que la replicación depende de las ddpp de las plantas.

El proceso ocurre en el núcleo de sus células hospedantes a través del mecanismo de círculo rodante (figura 102). Se cree que la llegada del virus al núcleo depende de la presencia de señales de localización ubicadas en las proteínas de la cápside. La replicación inicia con la utilización de la cadena sencilla de (+) DNA como molde para la síntesis de la cadena (-), lo que crea una forma replicativa (RF) de doble cadena. Dicha RF servirá de molde para la transcripción y para la generación de nuevas copias del genoma viral (+ssDNA). La transcripción se da a partir de dos promotores ubicados en la región intergénica y opera en direcciones opuestas, utilizando la ddrp celular.

La replicación depende de la proteína viral Rep (*replication-associated protein*) que reconoce una secuencia específica en la región intergénica y cliva en el extremo 3' la cadena positiva del dsDNA, justo en el motivo conservado TAATATTAC, que forma un asa. De esta forma se genera un sitio de unión que da inicio a la síntesis de nuevas cadenas positivas y que utiliza como molde la hebra negativa. Por último, la síntesis

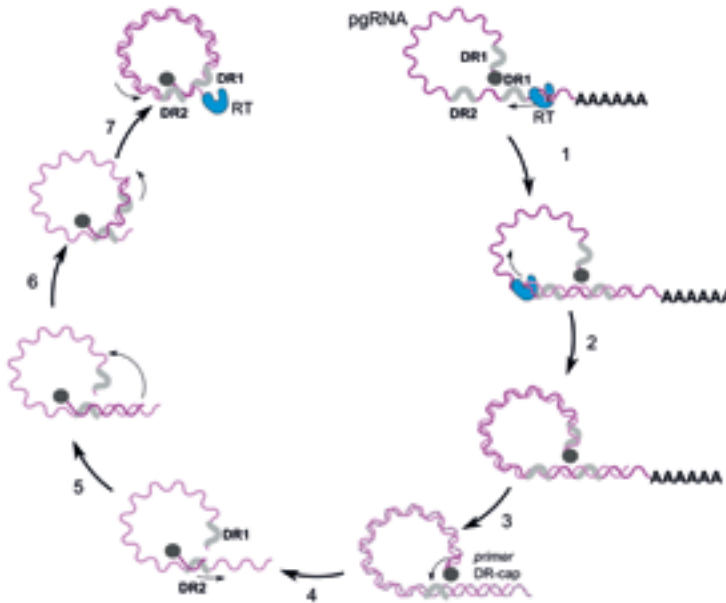


Figura 101. Diagrama del proceso de replicación de pararetrovirus con genomas de dsDNA-(RT). Se puede observar que el RNA pregenómico (pgRNA) es el molde que da inicio a la replicación y que por acción de una retrotranscriptasa y de *primers* específicos (por ejemplo, DR-cap) se originan moléculas de dsDNA, según la dirección de motivos altamente conservados en el genoma viral (como DR1 y DR2).

Basado en: ViralZone c2011

{ 138 }

de las cadenas negativas son cebadas por un *primer* de RNA que se cree que lo produce una RNA polimerasa o una RNA primasa específica.

Así las cosas, la abertura (*nick*) generada en la cadena positiva del dsDNA deja un 3'OH libre que sirve como *primer* para la síntesis por las enzimas del hospedante de una nueva cadena positiva, que va desplazando la cadena parental (+) a medida que se generan las nuevas hebras. Por último, la proteína Rep, con su función de ligasa, sella la abertura, y comienza un nuevo ciclo de replicación sobre la cadena recién formada.

Los geminivirus controlan el ciclo de sus células hospedantes a partir de la interacción de Rep con proteínas encargadas del mantenimiento de las células en la fase G, lo que induce a que la célula regrese a la fase S, donde se producirán los factores de replicación requeridos para la multiplicación viral.

Ensamblaje de partículas virales

Una vez se han generado las proteínas virales estructurales o funcionales y se han producido las nuevas copias del genoma, el ciclo infectivo viral continúa con el ensamblaje de las partículas. Este aspecto es de los menos conocidos en la biología de los virus de plantas, pues en la experimentación *in vitro* es difícil de lograr, dadas las complejas interacciones que ocurren entre los ácidos nucleicos y las proteínas virales y del hospedante. Sin embargo, se acepta que el autoensamblaje viral depende principalmente de las configuraciones estructurales de las macromoléculas que intervienen en el proceso y de las condiciones fisicoquímicas del citoplasma de la célula infectada.

Para el caso de virus helicoidales, la información disponible se basa en el proceso de ensamblaje del TMV, que inicia con la unión del RNA genómico con un doble disco de proteínas de cápside. La asociación

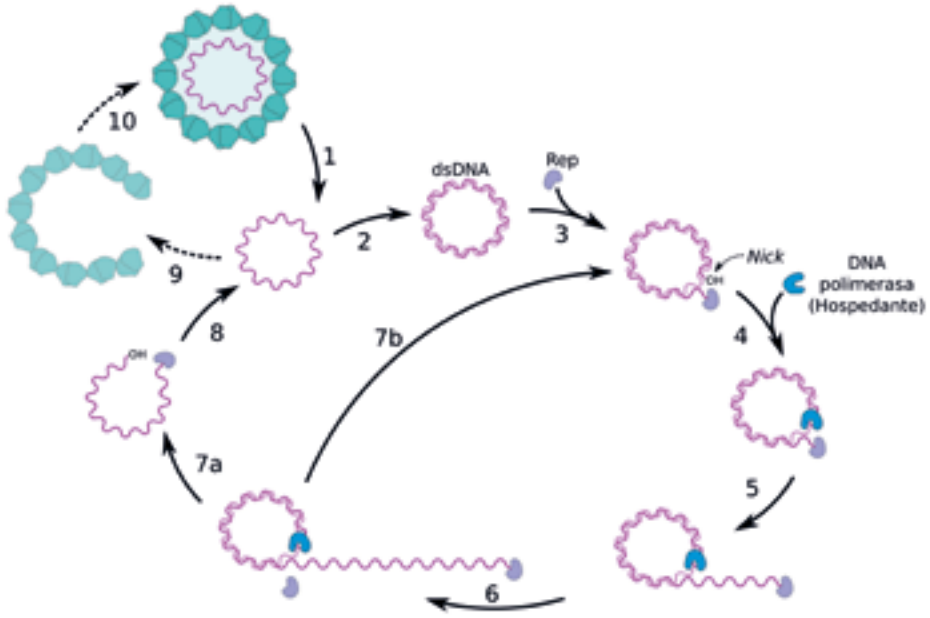


Figura 102. Diagrama del proceso de replicación de virus con ssDNA como genomas. Este sistema opera con el mecanismo de círculo rodante, en el que, a partir de un molde de dsDNA, se generan múltiples copias continuas de ssDNA, por acción de una DNA polimerasa del hospedante con dominio de proteínas de control del virus (por ejemplo, Rep). Fuente: ViralZone c2011

{ 139 }

ocurre en una región específica de entre 900 y 1.300 nt del extremo 3', que presenta diferentes asas como resultado del apareamiento interno de nucleótidos. Luego, la región 5' del genoma interactúa con estas proteínas de cápside y se da comienzo a la extensión de la varilla en dirección 5', que acomoda el RNA a través del hueco central y continúa con la adición de nuevos discos. Esto sucede rápidamente, mientras que en el extremo 3' el proceso es más lento, al no depender de discos completos, sino de agregados menores.

El ensamblaje de los virus icosaédricos, por su parte, ha sido estudiado en especial en bromovirus, aunque el arreglo en apariencia irregular de los ácidos nucleicos dentro de las partículas dificulta su estudio experimental. Se cree que los RNA genómicos generan estructuras helicoidales, así como otros arreglos fuertemente plegados, por lo que se presentan interacciones RNA-proteínas en las que participan aminoácidos básicos con los grupos fosfato del RNA y asociaciones proteína-proteína como

resultado de fuertes interacciones entre residuos de subunidades anexas.

Movimiento interno de virus en las plantas

En forma paralela o posterior al proceso de ensamblaje de partículas maduras virales, el ciclo infectivo continua con el desplazamiento de los viriones, o incluso de genomas desnudos (*naked genomes*), provistos de proteínas de movimiento a células adyacentes, que usan los plasmodesmos que conectan el simplasto de los vegetales.

Cuando el movimiento está restringido a unas pocas células como respuesta de los mecanismos de defensa del hospedante, se presenta una infección denominada subliminal, sin importancia desde el punto de vista agronómico, por solo inducir síntomas locales o incluso microscópicos. Ahora bien, si dicho proceso avanza

no solo a las células adyacentes sino también a las del sistema vascular, ocurrirá una infección sistémica de la planta, con la aparición de los consiguientes síntomas secundarios discutidos anteriormente.

El desplazamiento descrito se realiza a través de los poros abiertos que conectan los elementos cribosos del floema, de manera que una vez que llega el virus a un tejido alejado del sitio de inoculación comenzará un nuevo movimiento célula-célula a través de los plasmodesmos. Se ha encontrado que unos pocos virus de plantas utilizan los vasos del xilema para su transporte sistémico; son ejemplos el *Southern bean mosaic virus* (SBMV) y otros sobemovirus, posiblemente como respuesta a su transmisión por insectos coleópteros que por lo común habitan en túneles construidos dentro de este tipo de tejido vascular.

Un ejemplo clásico que demuestra la sistematicidad de los virus vegetales fue el desarrollado por Samuel, en 1934, con el TMV en plantas de tomate. En este experimento, se inoculó de modo mecánico una hoja en diferentes plantas y se monitoreo la distribución del virus respecto al tiempo, con base en la observación de lesiones locales. Esta evaluación permitió también determinar la concentración viral relativa en cada planta, pues el número de lesiones locales está asociado con el título viral.

Los resultados mostraron que durante tres días el TMV permanecía en las hojas inicialmente inoculadas; luego, en el cuarto día después de la inoculación, aparecía en la radícula y, en el día quinto, en el brote apical. Diez días después de la inoculación, el virus se presentaba en diferentes hojas, sobre todo del tercio superior, mientras que 18 días después, la detección ocurría también en el tercio inferior. Por último, a los 25 días, prácticamente todos los tejidos foliares aparecían infectados con el virus (figura 103).

En principio, la infección de este mismo virus en tabaco genera un incremento severo hasta 10 dpi (días posinoculación), período después del cual se produce un efecto *plateau*. Sin embargo, es necesario tener en

cuenta que ambas situaciones están referidas a una combinación específica de variantes virales/hospedantes, en condiciones ambientales controladas, y, por tanto, no es posible generalizar ni los tiempos ni la distribución viral en otros patosistemas, en diferentes tipos de producción agrícola.

Movimiento intercelular

El movimiento célula-célula de los virus comienza casi siempre a partir de células epidermales o del mesófilo (con excepción de aquellos virus limitados al floema), con dirección a los haces vasculares y con el uso de los plasmodesmos. Como los canales de dichas estructuras por lo general son más pequeños que las propias partículas virales, o aún que sus ácidos nucleicos plegados, en muchos casos se requieren proteínas específicas de origen viral, denominadas MP (proteínas de movimiento) que ayudan a incrementar el tamaño de estas aberturas. Estas proteínas tienen la capacidad de unirse a genomas de RNA o DNA e incluso de transportarse en forma independiente entre células.

Existen diferentes tipos de MP, como la P30 (30kDa) del TMV, que se encarga de desdoblar las estructuras terciaria y secundaria del RNA viral, para constituir una

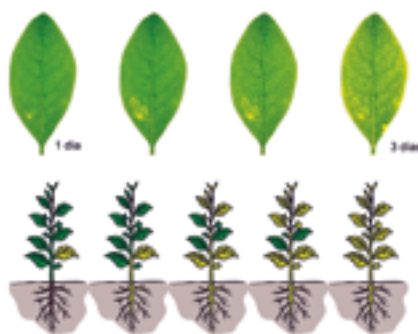


Figura 103. Diagrama esquemático del resultado del experimento clásico desarrollado por Samuel en 1934 sobre el movimiento sistémico del *Tobacco mosaic virus* (TMV) en plantas de tomate. Se puede notar que en este caso el virus primero infecta la radícula en el día 4 y luego se desplaza al brote apical un día después. Transcurridos 25 días, virtualmente toda la planta presenta infección viral.

Basado en: Agrios 2005

ribonucleoproteína de 1,5-3 nm de diámetro y, paralelamente, modificar la estructura de los plasmodesmos hasta generar canales de 3-4 nm que permiten el paso del virus. Otros, como los potexvirus y pomovirus, codifican para tres MP organizadas a partir de un triple bloque de genes (TGB), por lo general ubicados continuamente e, incluso, traslapados en los genomas virales.

Para el caso de los potyvirus, la función de movimiento celular la suplen proteínas como la CP y HC-Pro, que aumentan el tamaño del poro plasmodesmatal, y la CI que actúa para facilitar el paso del complejo ribonucleoproteico. En los comovirus, caulimovirus y tospovirus existen MP asociadas a túbulos que se extienden al interior de los plasmodesmos, para posibilitar el paso de los viriones a las células adyacentes. Por supuesto, el transporte de RNP a través de los plasmodesmos es un proceso activo en el que, además de las proteínas virales, también participan diferentes elementos del citoesqueleto celular, especialmente de los microfilamentos de actina.

Movimiento sistémico de virus

El movimiento sistémico de los virus no limitados al floema requiere que el virus se desplace desde tejidos no vasculares hacia tejidos vasculares. Esos tejidos incluyen, además de los tubos cribosos del floema y de los vasos del xilema, células acompañantes del parénquima, cada una de las cuales tiene propiedades únicas, en especial en lo que se refiere al tipo y número de plasmodesmos o de otras estructuras que permiten su comunicación.

El movimiento de virus en las plantas en general sigue el propio transporte de fotosintetatos desde las hojas funcionales hacia los sitios de almacenamiento y tejidos en desarrollo (como brotes, radícula, hojas jóvenes). Por lo común, se mueven sistémicamente en su forma de viriones maduros, aunque se presentan excepciones como el BSMV —que lo hace como nucleoproteína con la MP TGB1— y los viroides que, aún sin tener cápside, presentan un movimiento sistémico bastante eficiente en las plantas infectadas. Se estima que los tiempos requeridos para dar inicio al

movimiento sistémico de virus en plantas varían entre 24 y 48 horas para aquellos no limitados al floema, y de 12 a 24 horas para los limitados a ese tejido.

La participación de las MP en el movimiento sistémico de los virus de plantas opera de varias maneras por ejemplo, en el PLRV (un virus limitado al floema) se cree que la proteína de 17 kDa es la responsable del reconocimiento específico de los plasmodesmos de las células acompañantes del floema y de los tubos cribosos, lo que impide que el virus se mueva a otros tejidos diferentes. Por su parte, la proteína 2b de CMV y otras tantas en diferentes virus soportan el movimiento sistémico al actuar en el silenciamiento de genes, por lo que se supone que este mecanismo supresor de defensas es clave para alcanzar la sistemicidad de los virus de plantas.

También existen factores del hospedante que ayudan o restringen el movimiento sistémico de los virus de plantas, como la metil-esterasa (PME), que es esencial para la salida del TMV desde el floema hacia las células del mesófilo, mientras que proteínas como las RTM (*Restricted TEV Movement*), que se expresan solo en células asociadas al floema, actúan para evitar el despliegue del RNA del *Tobacco etch virus* (TEV), para facilitar su transporte entre tubos cribosos, y se comportan como proteínas chaperonas.

Otros mecanismos que restringen el movimiento sistémico de los virus en las plantas incluyen el depósito de callosa en los haces vasculares y el aumento de las respuestas de silenciamiento de genes en dichas células.

Una vez alcanzada la invasión sistémica de los virus en las plantas, el ciclo continuará con su transmisión a otras plantas mediante vectores o con su paso a los órganos de propagación sexual o asexual, con lo que se da inicio a un nuevo proceso infectivo en otro individuo del cultivo o de la progenie vegetal. Por supuesto, este nuevo hospedante ofrecerá diferentes mecanismos de resistencia ante la llegada del patógeno viral y, según su capacidad de defensa o la posibilidad del virus de suprimir o atenuar dichas respuestas, comenzará o no un nuevo ciclo de infección viral.



Defensa de las plantas ante la infección viral

Las plantas pueden oponer a la infección viral de tres formas: mediante reacciones de inmunidad, de permisividad o de no-permisividad, lo que, en términos prácticos, definirá si la planta es no-hospedante (inmune) u hospedante del virus, y cuál será su respuesta: resistente, tolerante o susceptible.

En fitopatología, esas calificaciones han sido utilizadas según diferentes criterios, por lo que es usual que sean controvertidos por genetistas y fitopatólogos. Sin embargo, en este texto se utilizarán en términos prácticos para indicar que una planta no permite el progreso de la infección sistémica –al desarrollarse infecciones subliminales (respuesta inmune)– o, por el contrario, la infección prospera con diferentes niveles de agresividad.

Los niveles en cuestión pueden variar desde la resistencia extrema –que no conduce a pérdidas económicas significativas como resultado de una interacción no permisiva (por ejemplo, solo causa efectos locales)–, la tolerancia (como niveles moderados de infección y, por ende, de pérdidas económicas) y hasta la susceptibilidad completa, en la que típicamente se presenta la infección sistémica del hospedante.

En la tabla 9 aparece un esquema de las diferentes respuestas que pueden presentar las plantas ante la infección de dos virus (TMV y TEV). Lo condensado es resultado del trabajo pionero adelantado por Holmes en 1946, quien inoculó 310 especies con TMV y TEV; evaluó la sintomatología resultante (local versus sistémica) y la posibilidad de recuperar el virus por reinoculación sobre un hospedante susceptible.

Tabla 9. Tipos de susceptibilidad a *Tobacco mosaic virus* (TMV) y *Tobacco etch virus* (TEV) en 310 plantas avaluadas por Holmes en 1946

Respuesta en la planta	No. de especies inoculadas con TMV	No. de especies inoculadas con TEV
No síntomas (Virus no recuperado)	111	227
No síntomas (Virus recuperado solo en hojas inoculadas)	100	15
Síntomas locales (Virus recuperado solo en hojas inoculadas)	27	7
No síntomas (Virus recuperado en hojas superiores)	15	8
Síntomas sistémicos (Virus recuperado en hojas inoculadas)	57	53

Fuente: Palukaitis y Carr 2008

Las reacciones de las plantas frente a la infección viral están definidas por las respuestas de silenciamiento de genes ante la ocurrencia de ácidos nucleicos extraños. Igual ocurre si se presentan genes dominantes o recesivos que actúan contra una variante viral particular, y es frecuente que los primeros codifiquen para proteínas del tipo NB-LRR (*Nucleotide-binding leucine-rich-repeat*), en especial de las clases estructurales CC-NB-LRR (*coiled-coiled -CC- protein domain*) y TIR-NB-LRR (*Toll/interleukin-1 receptor - TIR*) que participan

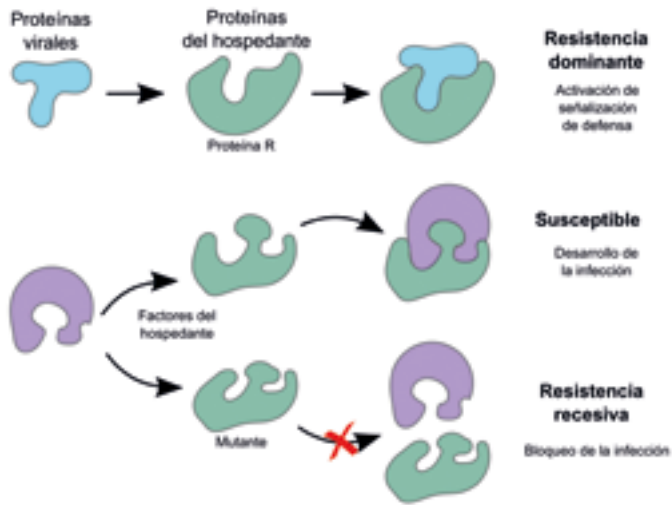


Figura 104. Esquema general de defensa en plantas mediada por genes dominantes y recesivos de resistencia a virus.
Fuente: Agrios 2005

Tabla 10. Genes dominantes y recesivos de plantas que han sido clonados y que confieren resistencia a virus

Genes de resistencia		
Genes dominantes	Especie de planta	Virus
N	<i>N. tabacum</i>	TMV, TOMV
RX1, RX2	<i>S. tuberosum</i>	PVX
sw-5	<i>S. lycopersicum</i>	TSWV, TCSV
HRT	<i>A. thaliana</i>	TCV
γ-1	<i>S. tuberosum</i>	PVY
rsv1	<i>G. max</i>	SMV
tm-2	<i>S. lycopersicum</i>	TOMV, TMV
RT4-4	<i>P. vulgaris</i>	CMV
pVVT1	<i>P. vulgaris</i>	BDMV
Genes recesivos	Especie de planta	Virus
pvr1/pvr2	<i>C. annuum</i>	PVY, TEV
mol1/mol2	<i>L. sativa</i>	LMV
sbm1	<i>P. sativum</i>	PSBMV, BYMV
pot-1	<i>S. lycopersicum</i>	PVY, TEV
rymv1	<i>O. sativa</i>	RYMV
nsv	<i>C. melo</i>	MNSV

BDMV: Bean dwarf mosaic virus; BYMV: Bean yellow mosaic virus; CMV: Cucumber mosaic virus; LMV: Lettuce mosaic virus; MNSV: Melon necrotic spot virus; PSBMV: Pea seed-borne mosaic virus; PVX: Potato virus x; PVY: Potato virus y; RYMV: Rice yellow mottle virus; SMV: Soybean mosaic virus; TEV: Tobacco etch virus; TMV: Tobacco mosaic virus; TCSV: Tomato chlorotic spot virus; TOMV: Tomato mosaic virus; TSWV: Tomato spotted wilt virus; TCV: Turnip crinkle virus.

Fuente: Palukaitis y Carr 2008

como moléculas señal para desencadenar reacciones de hipersensibilidad (HR) o de resistencia extrema (ER). A su turno, los genes recesivos encontrados como asociados con resistencia a virus codifican para factores de inicio traduccional involucrados en la formación del complejo ribosomal 40S, tal como *eIF4E* (tabla 10) (figura 104).

Las reacciones de resistencia por lo general son consecuencia de la expresión de genes *R* (de resistencia) que codifican para proteínas. Estas interactúan con un producto directo o indirecto de un gen de avirulencia (*Avr*) del patógeno y cuyo reconocimiento conduce a la activación de una cascada de señales inductoras de enzimas y otras proteínas que terminan por detener el progreso del ciclo infectivo, habitualmente a partir de la muerte celular programada de las células de ingreso del virus y de las circundantes, reacción que se denomina hipersensibilidad.

Esa respuesta se caracteriza por acciones como el engrosamiento de la pared celular, la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (por ejemplo, superóxido y peróxido de hidrógeno) y óxido nítrico, así como la expresión de genes relacionados con patogénesis (*PR*). Como hecho interesante, la respuesta específica también provoca un mecanismo

de defensa móvil y activo contra el virus inductor y contra otros virus, o incluso otros fitopatógenos (como hongos y bacterias), que pudieran llegar a los tejidos que rodean los sitios de hipersensibilidad, o aún a sitios distantes, por lo que se denominan respuestas de resistencia localizada adquirida (*LAR*) o de resistencia sistémica adquirida (*SAR*), respectivamente (figura 105).

Se ha encontrado una estrecha asociación entre los patrones de expresión de las *PR* indicadas anteriormente y las respuestas de *LAR* y *SAR*, así como también entre la rápida acumulación de pequeñas moléculas reguladoras del desarrollo vegetal como el ácido salicílico, ácido jasmónico y el etileno, con la transducción de señales que dan lugar a respuestas sistémicas.

Las respuestas de resistencia vegetal como resultado del reconocimiento de genes *R* de los productos de los genes *Avr* de los fitopatógenos activan diferentes genes de defensa que incluyen proteínas citoplasmáticas, de pared celular y extracelulares. Las primeras están relacionadas con las rutas de los fenilpropanoides que transforman la fenilalanina a coumaroil-coA, y en la que participa la enzima fenilalanina amonio liasa (*PAL*), que también actúa en la síntesis de ácido benzoico, el precursor del ácido salicílico, la molécula

{ 145 }

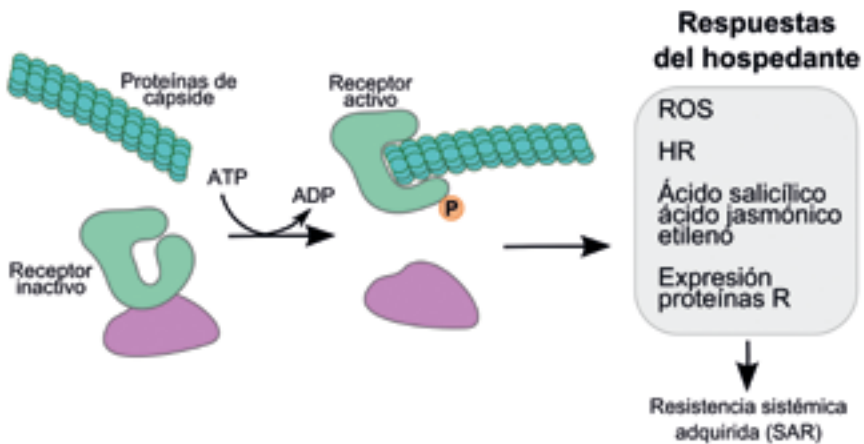


Figura 105. Esquema general de la respuesta mediada por proteínas de señalización NB-LRR ante la detección de proteínas de la cápside viral.

Fuente: autores

señal cuyo papel es clave para SAR. De modo similar, las enzimas chalcona sintasa y chalcona isomerasa lideran la síntesis de fitoalexinas, es decir, de sustancias antimicrobiales sintetizadas *de novo* por las plantas y que se acumulan rápidamente en los sitios de infección inicial de fitopatógenos.

Desde el punto de vista químico, las fitoalexinas son inhibidores de amplio espectro de las clases terpenoides, glicosteroides y alcaloides, entre otras. Sin embargo, el efecto de las fitoalexinas sobre los virus no se ha dilucidado plenamente y por el contrario se cree que no cumplen funciones tan fundamentales en la defensa contra estos patógenos, como sí lo hacen contra infecciones micóticas y bacterianas.

Con respecto a las proteínas de pared, se destacan la deposición de glicoproteínas ricas en hidroxiprolina, en glicina y en prolina. Estas proteínas refuerzan la estructura de la pared celular vegetal al formar enlaces de di-tirosina que interactúan con polifenoles (por ejemplo, lignina) para formar redes tridimensionales de soporte, que dificultan la degradación de las paredes por enzimas catalíticas de origen fungoso y bacterial.

El tercer tipo de proteínas, las extracelulares, son básicamente las PR ya indicadas, pues se sintetizan tanto como una parte de la respuesta hipersensible en los sitios de infección, así como resultado de las LAR y SAR. Desde el punto de vista químico, son proteínas ácidas solubles y resistentes a proteasas que se secretan en el espacio intercelular. Se agrupan en al menos once familias denominadas PR-1, PR-2 y así sucesivamente. Cumplen funciones como quitinasas (ePR-3), glucanasas (PR-2), lisozimas (PR-8), inhibidores de amilasas (PR-6) y peroxidasas (PR-9), entre otras. Para el caso de la resistencia a virus, hasta ahora solo se ha encontrado una familia de proteínas PR (PR-10) con aparente actividad como ribonucleasas, por lo que se plantea que podrían actuar sobre intermediarios de dsRNA de amplio espectro en diferentes tipos de virus. Sin embargo, dicha suposición hasta ahora es solo especulativa, pues aún no se ha confirmado experimentalmente que exista alguna PR-10 activa contra virus.

Con respecto a los determinantes *Avr* de las reacciones de hipersensibilidad, se ha encontrado que los productos de diferentes tipos de genes de origen viral podrían actuar como desencadenantes de dichas reacciones, incluso el dominio helicasa 50 kDa de la replicasa de TMV y las proteínas de cápside del PVX y del *Turnip crinkle virus* (TCV).

Defensa contra virus por silenciamiento de RNA

El silenciamiento de RNA es uno de los mecanismos que utilizan los organismos eucariotes para controlar la expresión de genes y para la defensa contra patógenos intracelulares como los virus. Este mecanismo también se ha denominado silenciamiento postranscripcional (PTGS) y opera a partir de la detección de moléculas de dsRNA que clivan una RNasa III, denominada Dicer, en oligonucleótidos de 21-26 nt, llamados microRNA (miRNA) o RNA pequeños de interferencia (iRNA).

Las cadenas de los miRNA se separan para generar una cadena guía (complementaria al RNA que dio origen al dsRNA) y una antiguía (*helper strand*) que es luego degradada. Los miRNA guía son, entonces, incorporados en un complejo proteico llamado *RNA-induced-silencing complex* (RISC), que incluye una familia de proteínas argonautas (AGO), encargadas de retener los miRNA y dirigen el proceso de degradación de los RNA virales (figura 106).

En las plantas se han encontrado diferentes rutas de silenciamiento de genes, clivaje de mRNA, represión transduccional y represión transcripcional, que dependen de diversos tipos de RNA pequeños como: miRNA, *trans-acting siRNA* (ta-siRNA), *natural cis-antisense transcript-derived siRNA* (nat-siRNA), *cis-acting siRNA*, entre otros. Los últimos se generan como respuesta a ácidos nucleicos externos, tales como los de origen viral o como resultado de la transgénesis.

En las plantas también se han encontrado diferentes enzimas Dicer (DCL - *Dicer-like*), por ejemplo las DCL1 generan miRNA y siRNA de 21 nt, mientras que DCL2

sintetiza nat-siRNA de 24 nt y DCL4 produce ta-siRNA y cis-acting siRNA de 21 nt. Se ha demostrado que la acción de dichas enzimas opera en forma independiente contra diferentes virus (RNA y DNA) y viroides, es decir, ellas generan traslape en la acción de defensa.

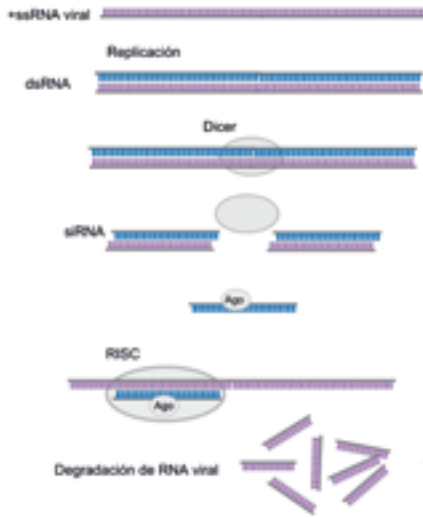


Figura 106. Mecanismo general de silenciamiento de genes involucrado en la defensa de las plantas contra las infecciones virales. Este sistema depende de la generación de miRNA que se utilizan como guía para dirigir la acción de clivaje del genoma viral por parte del complejo RISC. Fuente: autores

El silenciamiento de RNA como mecanismo de defensa viral resulta en la *recuperación* de las plantas infectadas o en la *reversión de síntomas*, un fenómeno observado desde tiempo atrás en el estudio de la virología vegetal. También, ese mecanismo está relacionado con los efectos de la protección cruzada, en la cual se inoculan las plantas con cepas virales atenuadas para inducir resistencia a cepas virulentas o, incluso, frente a otras especies virales relacionadas.

Diferentes observaciones en campo y de orden experimental han demostrado que el silenciamiento de RNA es altamente dependiente de la temperatura; su acción es mejor y, por ende, el fenómeno de recuperación de

síntomas, a mayores (ejemplo: $>21^{\circ}\text{C}$) que a menores temperaturas (ejemplo: $\leq 15^{\circ}\text{C}$), aunque las razones que explican esta situación todavía no se han dilucidado plenamente.

Tal como se indicó, el silenciamiento de RNA es activo contra una amplio rango de virus, incluso de aquellos que tienen dsRNA como genoma, ssRNA (+ y -) que forman intermediarios de dsRNA para su replicación. Igual ocurre contra virus de DNA, pues durante la transcripción del mRNA viral generan productos que pueden formar dsRNA temporales, blanco de los sistemas Dicer. También se ha encontrado que incluso las estructuras secundarias con formas de asas y lupas imperfectas en regiones de los genomas virales pueden desencadenar respuestas de silenciamiento de RNA.

El silenciamiento de RNA viral puede ser difundido de manera sistémica en las plantas a partir de siRNA de 21-24 nt producidos por el sistema Dicer/RISC en las células inicialmente infectadas. Esto ocurre gracias a que en las plantas se presentan proteínas (codificadas por genes RDR) que amplifican el número de siRNA, para generar formas de doble cadena, que luego serán procesadas como siRNA secundarios que se distribuyen por el sistema vascular, seguramente en asociación con proteínas de unión a siRNA, lo que garantiza una respuesta de silenciamiento en sitios alejados del lugar de inicio de la infección.

{ 147 }

Dado el éxito de los virus como fitopatógenos, de modo paralelo también han generado una serie de estrategias que permiten suprimir parcial o totalmente los mecanismos de defensa en las plantas; algunos de ellos se describen a continuación.

Supresores virales del silenciamiento de RNA

La mayor parte de los virus de RNA y DNA generan rutas supresoras de silenciamiento de RNA (vsrs – *suppress RNA silencing*) como mecanismos de contra-defensa que básicamente actúan de tres formas: (a) por unión a

dsRNA, (b) por inhibición de algunos componentes de la maquinaria RISC y (c) por acción directa contra enzimas requeridas para la metilación del DNA.

El primer caso es el que se conoce mejor y consiste en el secuestro de los dúplex de siRNA, lo que evita su carga en las proteínas argonautas, de manera que no se puede iniciar el ensamblaje del RISC. Este sistema también puede actuar sobre dsRNA de mayor tamaño, lo que inhibe la biogénesis de miRNA.

Las proteínas que participan en estos procesos no presentan secuencias homólogas ni dominios estructurales conservados, por lo que se considera que han evolucionado en forma independiente como respuesta de los virus ante los mecanismos particulares de silenciamiento de RNA de sus hospedantes. Por eso, diferentes proteínas estructurales y no estructurales de origen viral se han registrado como posibles supresores del silenciamiento, y es característico que presenten otras funciones adicionales como,

por ejemplo, de movimiento, asociación con síntomas e, incluso, pueden ser las mismas proteínas de la cápside viral. Así, como muestra, la proteína p19 de los tombusvirus se une en forma de homodímero a ds-siRNA, los captura y, por tanto, suprime su efecto en el silenciamiento. Una acción similar la cumplen la p20 de los closterovirus, TGB1 de *Barley stripe mosaic virus* y la HC-Pro de potyvirus. Por su parte, la proteína 2b de CMV interactúa con la proteína argonauta 1 del RISC e inhibe su actividad.

Se ha planteado la hipótesis de que otros virus podrían emplear el mecanismo encontrado en los nodavirus animales, en los que la proteína B2 se une directamente al dsRNA e inhibe la formación de siRNA (tabla 11). Por último, es necesario indicar que no en todos los virus de plantas se han encontrado proteínas supresoras de silenciamiento, pero se cree que esta situación la suple su replicación en sitios inaccesibles al sistema Dicer/RISC, como vesículas y sistemas membranosos.

{ 148 }

Tabla 11. Algunos mecanismos y proteínas responsables de rutas supresoras de silenciamiento de RNA (VSR) en virus de plantas

Virus	Proteína con acción vsr	Mecanismo
<i>Potato virus M</i> (<i>Carlavirus</i>)	Proteína 1 del triple bloque de genes, ORF6	Secuestro de dúplex de siRNA
<i>Cucumber mosaic virus</i> (<i>Cucumovirus</i>)	Proteína 2b	Secuestro de dúplex de siRNA y de dsRNA largos
<i>Tomato spotted wilt virus</i> (<i>Tospovirus</i>)	nss	Secuestro de dúplex de siRNA y miRNA, así como de dsRNA largos
<i>Citrus tristeza virus</i> (<i>Closterovirus</i>)	P23, proteína de cápside, p20	-
<i>Pea enation mosaic virus-1</i> (<i>Enamovirus</i>)	Proteína PO	Degradación de AGO1
<i>Potyvirus</i> (<i>Potyviridae</i>)	HC-Pro	Previene acumulación de siRNA
<i>Turnip crinkle virus</i> (<i>Carmovirus</i>)	P69	Compite e inhibe la proteína Argonauta 1
<i>Tomato chlorosis virus</i> (<i>Crinivirus</i>)	P22	Secuestro de dúplex de siRNA

Fuente: ViralZone c2011

Plantas transgénicas por resistencia a virus

El fenómeno de silenciamiento de genes mencionado fue descubierto gracias a las inconsistencias encontradas en las respuestas de las plantas transformadas con genes virales como una estrategia para originar resistencia a su infección; se detectó que en dichas plantas modificadas se suprimía total o parcialmente la expresión de estos genes en niveles transcripcional o postranscripcional.

La transgénesis por resistencia viral se fundamentó en los conceptos definidos por Sandford y Johnson en 1985, quienes sugirieron que la expresión de secuencias de patógenos podría interferir con su infección en un mecanismo denominado *Parasite-Derived Resistance* (PDR).

La primera demostración de la funcionalidad del PDR contra virus de plantas se presentó en 1986, cuando Powell-Abel y colaboradores demostraron que la expresión de la proteína de la cápside de TMV en plantas de tabaco protegía a dichas plantas contra la infección viral, bien por la supresión total del virus o por la demora en la aparición de síntomas sistémicos,

con respecto a plantas control no transformadas. En los años noventa, además de la transgénesis de CP (*CP-mediated resistance*), se utilizó también la expresión de la replicasa viral, MP, proteasas e incluso de regiones no codificantes y RNA satélites. Además de PDR, la transgénesis por resistencia a virus también ha utilizado genes de plantas involucrados en la resistencia natural como el Rx1, que ofrece resistencia extrema a PVX, y el gen N de tabaco contra TMV que interfiere con la infección viral, así como RNAsas específicas contra dsRNA e inhibidores de cisteína proteasas, entre otros. En la figura 107 se presenta un esquema general en el que se comparan los procesos de introducción de genes de resistencia a virus mediante una estrategia de mejoramiento convencional y transgénesis.

En la actualidad la mayoría de plantas transgénicas con resistencia a virus han sido transformadas con constructos que incluyen regiones codificantes completas o parciales, así como secuencias no codificantes, en ambos casos con orientación con sentido o antisentido. Son ejemplos de materiales evaluados en campo, o liberados comercialmente en diferentes países, el maíz con resistencia al *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) y al *Sugarcane mosaic virus* (SCMV); el arroz resistente a *Rice hoja blanca virus* (RHBV); el melón con

{ 149 }

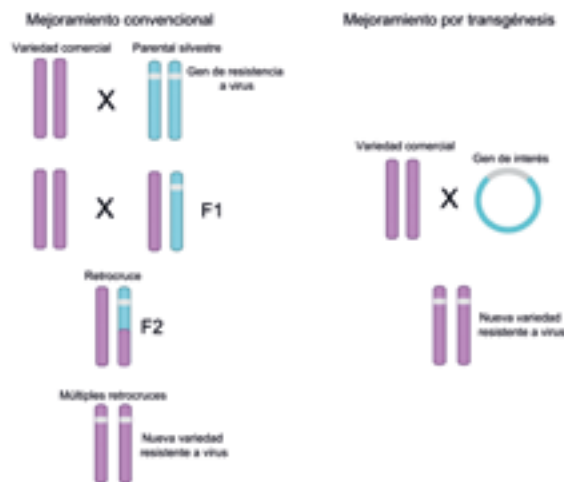


Figura 107. Esquema general de los procesos de introducción de genes de resistencia a virus de plantas mediante estrategias de mejoramiento convencional y transgénesis.

Fuente: autores

resistencia a CMV; la papaya con resistencia a *Papaya ringspot virus* (PRSV); la caña de azúcar con resistencia *Sugarcane yellow leaf virus* (SCYLV); el frijol con resistencia a *Bean Golden mosaic virus* (BGMV); la papa con resistencia a PVY, PVX, PLRV, y el tomate con resistencia a CMV, TMV, ToMV y TSWV.

El proceso para la obtención de plantas transgénicas requiere la selección del gen que se va a transferir, la elaboración de un constructo, la transformación de las plantas, su regeneración por técnicas de cultivo de tejidos, la evaluación del fenotipo y genotipo de las plantas modificadas y, por último, las evaluaciones en invernadero y campo, para proceder así a la liberación comercial, una vez surtidos los trámites normativos.

En el caso de la resistencia a virus, es frecuente la selección del gen CP, aunque si se trata de virus de RNA es necesaria la conversión de la región respectiva del genoma a cDNA mediante el uso de la retro-transcripción. A partir de allí, se utilizan técnicas como PCR y secuenciación para verificar la integridad del fragmento y proceder a su ligación con otras secuencias, que actuarán como un constructo o casete genético, al contener además secuencias que permiten la expresión estable del gen en el contexto de la célula vegetal, que incluyen un promotor, codones de inicio y terminación y posiblemente secuencias para reconocimiento de ribosomas.

Los promotores más utilizados son el del RNA 35S de camv y el del gen nopalina sintetasa de *Agrobacterium tumefaciens*. Por lo general, dichos constructos son integrados en plásmidos bacteriales y multiplicados en *E. coli*, siendo seleccionadas las colonias recombinantes (con el plásmido) por la presencia de un gen de resistencia a antibióticos.

La transformación de las plantas se realiza bien por transferencia directa del constructo o plásmido (menos deseable desde el punto de vista de bioseguridad, dada la presencia del gen de resistencia a antibiótico) por electroporación de protoplastos celulares o por microinyección con la *pistola genética*, un instrumento que

dispara micropartículas de tungsteno u oro que recubren el constructo de DNA, o mediante transferencia biológica a través de cepas modificadas de *A. tumefaciens*.

Esta bacteria, habitante natural del suelo, transforma las células de sus plantas hospedantes con genes provenientes de su plásmido Ti (inductor de tumores), lo que deriva en la generación de agallas en el cuello de las plantas. La transformación por este medio consiste entonces en la inserción del constructo en plásmidos Ti no funcionales de los que se ha eliminado parcialmente la región T-DNA, que contiene los genes inductores de tumores y de síntesis de opina (aminoácidos utilizados por la bacteria), y en su reemplazo se ha incluido el constructo de interés. Esta región está flanqueada por secuencias de 25 pb, fundamentales para que ocurra la transferencia de la región T-DNA, y luego por la región *Vir* (virulencia) que contiene los genes encargados de regular la integración del T-DNA en los cromosomas vegetales.

Posterior a la transformación, se procede a la identificación de las células recombinantes (que tienen integrado el transgén), mediante selección por kanamicina o por marcadores como GUS (β -glucuronidasa) y GFP (proteína verde fluorescente), entre otros, y se procede a la evaluación bioquímica (por ejemplo, ELISA, *Western blot*) y molecular (por ejemplo, PCR específica, *Northern* y *Southern blot*) de los productos de la expresión del transgén.

La confirmación de la integración estable y funcional del transgén en el genoma de las células vegetales conduce a la regeneración de plantas completas y a las evaluaciones en invernaderos de bioseguridad de la estabilidad de la expresión en diferentes órganos, segregación mendeliana y, sobre todo, resistencia al virus objetivo; se evalúa su título, sistemicidad e inducción de síntomas en plantas transformadas en comparación con controles no modificados. Para terminar, se realizan pruebas de campo (lo que requiere permisos de autoridades ambientales) de comportamiento agronómico y, nuevamente, de resistencia contra el virus objetivo, en condiciones naturales.

Entonces comienza la propagación masiva de las plantas transgénicas para su comercialización o bien para su incorporación en programas de mejoramiento genético que buscan obtener variedades tradicionales con la nueva característica de resistencia a virus (figura 108).

El uso de plantas transgénicas en la agricultura genera gran debate en diferentes sociedades. Algunos países han sido más liberales con respecto a los posibles riesgos para la salud pública y el ambiente, mientras que otros han concebido legislaciones que prohíben terminantemente su siembra y comercialización e, incluso, su utilización con fines científicos. Los defensores de estas biotecnologías alegan que los potenciales riesgos —como la transferencia de genes desde plantas cultivadas a especies silvestres, la heteroencapsidación (complementación de una función de un virus foráneo por efecto de la transgénesis) y la recombinación entre secuencias virales del transgén y de virus que pudieran llegar a la planta en forma natural— no son fenómenos exclusivos de la transgénesis, sino que han ocurrido en condiciones silvestres durante miles de años, como resultado

de las interacciones naturales de las plantas y los virus. Incluso otros afirman que el efecto de la integración de un nuevo gen en los hospedantes vegetales no tendría diferencia con las plantas resistentes a virus obtenidas por métodos de mejoramiento convencional.

Otro riesgo que se plantea en relación con las plantas transgénicas con resistencia a virus es el uso del promotor 35S y de genes marcadores con resistencia a antibióticos para la transformación. En el primer caso, se indica que el consumo de estos promotores podría implicar su integración al genoma humano o de un animal doméstico o salvaje, con riesgos asociados como cáncer, dado su origen en pararretrovirus. En el segundo, podría ser factible la transformación de bacterias patógenas de humanos y animales con los genes de resistencia a antibióticos. Sin embargo, los defensores de la biotecnología transgénica indican que los hombres y animales han consumido plantas infectadas por caulimovirus y por muchos otros virus durante miles de años, sin que esto se asocie con problemas como los mencionados, pues el sistema digestivo, al degradar el DNA vegetal, evitaría dichos riesgos. { 151 }

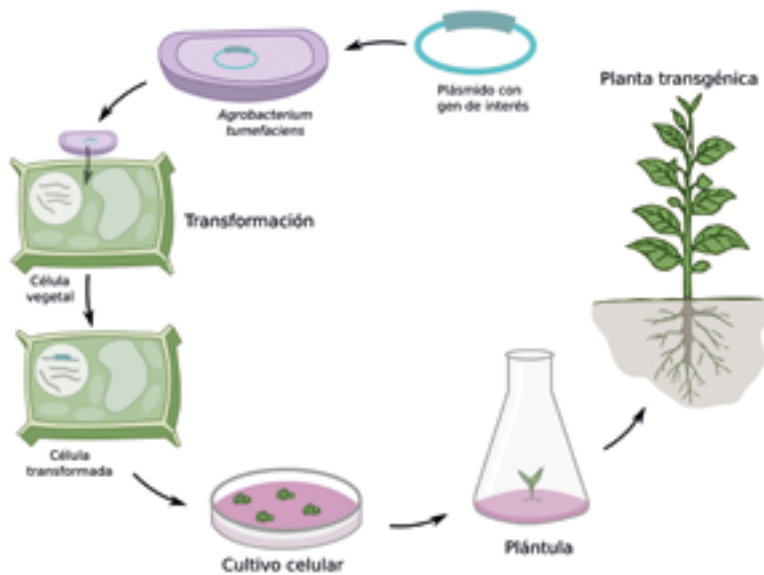


Figura 108. Esquema general de generación de plantas transgénicas con el uso de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*.
Fuente: autores

Con respecto a los problemas de resistencia a antibióticos en bacterias, los defensores de la transgénesis alegan que el riesgo de transferencia de genes por la vía descrita es menor que el derivado de la aplicación de antibióticos en ambientes nosocomiales y pecuarios que conducen a la selección de variantes bacterianas multirresistentes y que, de cualquier modo, la degradación del DNA en el estómago no daría a lugar a que ese fenómeno ocurriera.

En la actualidad la selección de recombinantes por resistencia a antibióticos se ha venido eliminando del proceso de transgénesis. Se ha sustituido por la selección positiva basada en genes como el que codifica para xilosa, de proteínas reporteras o incluso con el empleo de métodos avanzados de PCR, que no requieren la incorporación de un gen de selección a este sistema.

Los últimos desarrollos tienden a realizar la transformación con pequeños fragmentos del genoma viral, que no dan lugar a la síntesis de proteínas

virales en las células vegetales modificadas, sino que más bien actúan como inductores del silenciamiento de RNA. Con estas estrategias se busca minimizar la ocurrencia de posibles riesgos como los de heteroencapsidación y recombinación entre transgénos y genomas virales silvestres.

Aunque es obvio que existen grandes diferencias en cuanto a la percepción de los peligros de la transgénesis entre defensores y opositores de esa biotecnología, un punto de encuentro es el referente a la definición de los riesgos, pues hay consenso en que debe ser considerado caso por caso y no en términos genéricos, según el principio de que cada riesgo debe ser definido, evaluado y calificado de manera individual. En consecuencia, se debe informar con transparencia al público sobre los resultados, para que la sociedad, por lo general a través de sus órganos legislativos, defina si permite o prohíbe el uso de plantas transgénicas en sus países y determine los criterios técnicos que deben ser seguidos para el uso experimental o comercial de dichas plantas en su territorio.







Manejo de las enfermedades virales

Las enfermedades virales en los cultivos del trópico y del subtrópico representan un gran limitante para la producción agrícola, pues estas zonas tienen particulares condiciones climáticas, agroecológicas, económicas y culturales que favorecen la infección y diseminación natural o antropogénica de sus agentes causales.

Cuando se consideran los diferentes sistemas de producción agrícola que imperan en estas regiones (como cultivos mixtos, monocultivos, pasturas, sistemas agrosilvopastoriles) (figura 109) se observa una enorme diversidad de agroecosistemas y de prácticas culturales que, sin duda, dificultan el diseño de programas de manejo aplicables de manera genérica; sin embargo, existen principios y prácticas de manejo de las enfermedades virales que, adaptados a cada situación en particular, pueden conducir a obtener satisfactorios resultados de control.



Figura 109. Algunos agroecosistemas tropicales. a. Cultivos mixtos; b. Monocultivo; c. Exploraciones agropastoriles; d. Pasturas para ganadería intensiva y extensiva.

Con respecto a los términos de manejo y control, es necesario clarificar nuestra visión sobre dichos conceptos cuando nos referimos a enfermedades de origen viral; de esta forma, el manejo se refiere al conjunto de prácticas dirigidas al control de dichas enfermedades, es decir a su mantenimiento por debajo de umbrales de pérdidas económicas. Un principio básico que permite clarificar aún más dicha terminología y que debe ser la base para la toma de decisiones de cualquier técnico o agricultor que se enfrente a estas enfermedades es el hecho de que eliminar, erradicar, desaparecer o simplemente terminar con los virus de un cultivo o

de una región en particular son metas difíciles de lograr. Los agentes infecciosos –que es posible que hayan surgido incluso antes de las formas vivas celulares (según una de las teorías de origen viral) y hayan coevolucionado con sus hospedantes silvestres y domesticados por largos períodos de tiempo– tienen toda una estructura biológica que les facilita mantenerse como entes infecciosos siempre que haya una planta susceptible, aún con estrictas intervenciones antropogénicas. Por esto, desde el punto de vista virológico, el control de una enfermedad de esta categoría se logra cuando se evita que la presencia del virus afecte de manera significativa los rendimientos, la calidad y, en últimas, los beneficios económicos de la práctica agrícola.

{ 156 }

El siguiente aspecto que se debe sopesar sería, entonces, cuál es el nivel de control ideal. La respuesta no es universal por depender de muchos factores, pero se podría aproximar a indicar que es el punto en el que nos acercamos a los potenciales genéticos de las variedades y cultivares, según cada condición agroecológica particular. Como esta consideración es teórica, por cuanto no solo los virus reducen el óptimo productivo de los cultivos, entonces podremos decir que nuestro objetivo al controlar las enfermedades virales de las plantas es evitar que su presencia produzca un efecto tal que se generen pérdidas económicas a los agricultores o reducciones significativas en sus ganancias financieras.

La definición del nivel permisible de pérdidas se puede establecer mediante la utilización de una derivación de la definición de umbral de daño económico que se emplea para otros problemas fitopatológicos o entomológicos; pero, en todo caso, hay que tener en cuenta que el mantenimiento de fuentes de inóculo viral en los lotes de cultivo puede agravar, a largo plazo, la situación sanitaria de los cultivos.

Un concepto clave que se debe considerar es que todos los virus son infecciosos y, por ende, causan efectos deletéreos fisiológicos y metabólicos sobre sus hospedantes vegetales. Esos efectos pueden

ser evidentes, como cuando se presentan síntomas macroscópicos en el campo, o imperceptibles, como cuando se afecta mínimamente un proceso celular determinado, sin conducir a grandes cambios en el fenotipo del hospedante.

Las consecuencias macro o microscópicas resultan del hecho de que los virus son, antes que nada, parásitos del proceso de síntesis de proteínas de sus hospedantes y, por consiguiente, su proceso infectivo siempre generará una reducción en la cantidad y calidad de proteínas estructurales, de señalización, regulación y de las enzimas que conforman el andamiaje funcional y estructural de los seres vivos.

Por otra parte, un principio general que se debe considerar es el hecho de que cuanto más tarde llegue el virus al cultivo, menor será el efecto que causará. Por esto, la sanidad de semillas (sexuales o asexuales) y las prácticas que restrinjan la llegada de los vectores a los cultivos son factores claves para el control de las enfermedades virales.

Así las cosas, el control de los virus en la práctica agrícola parte del hecho de que su ocurrencia causa una reducción en el potencial productivo de los cultivos, que se espera que sea mínima, luego de la implementación de una serie de medidas de manejo fitosanitario.

Aquí entra de nuevo el concepto de manejo, que se refiere al conjunto de prácticas que realizan los agricultores, o incluso las sociedades (a través de los gobiernos, agremiaciones, juntas comunitarias), para lograr el control de las enfermedades virales; por ejemplo, la siembra de una variedad resistente o la eliminación de focos de enfermedad.

En conclusión, el control de una enfermedad viral es una meta cuantitativa o cualitativa que se quiere alcanzar luego de aplicar una serie de medidas de manejo en los cultivos, regiones o países. Por supuesto, existen múltiples enfoques para considerar estos conceptos, incluso el de la enfermedad misma,

pero en aras de la aplicabilidad, consideramos que las tesis planteadas son apropiadas para el contexto de la producción agrícola.

Prácticas de manejo de enfermedades virales

El establecimiento de las prácticas de manejo apropiadas para lograr el control de un problema viral en un cultivo determinado depende del conocimiento previo que se tenga de la biología del agente causal (o de los agentes causales, cuando se refiere a un complejo de virus) y de la epidemiología de la enfermedad resultante. Por ello, la investigación científica local es un soporte fundamental para dar un buen comienzo a un programa de manejo de enfermedades virales. Ahora bien, como la amplitud de la búsqueda científica puede ser infinita, pues la complejidad de la vida misma siempre nos llevará a plantear una nueva pregunta, entonces, es necesario delimitar una serie de aspectos prioritarios para definir el plan de prácticas de manejo que se va a establecer.

Entre los aspectos que hay que considerar se incluyen, la definición de causalidad del virus (o de los virus) con respecto a la enfermedad asociada, y una vez establecida esa condición, se requiere definir la identidad taxonómica del virus, para lo cual será necesario conocer su morfología, características del genoma, mecanismos de replicación, estrategias de expresión de genes y ciclo infectivo.

Al tiempo, es necesario determinar los principales aspectos biológicos de la interacción del virus con sus hospedantes y posibles vectores; es decir, la sintomatología macro y microscópica que causa, sus mecanismos de transmisión horizontal y vertical, su rango de hospedantes y el efecto que ocasiona sobre los sistemas de defensa de las plantas. Otro aspecto que se analizará será el efecto de las condiciones bióticas y abióticas sobre la interacción del virus con sus hospedantes. Esto es, definir las consecuencias de las condiciones edafoclimáticas,

de la presencia de otras enfermedades o de daños asociados a plagas y del entorno agroecológico sobre el desarrollo del ciclo de infección viral (por ejemplo, latitud y altitud de la explotación, arreglo de cultivos, presencia de bosques nativos o introducidos, etc.).

En la realidad, esta información se va obteniendo de forma gradual, y se requiere apoyo estatal y privado para poder recopilarla. Así, en nuestras condiciones científicas, por lo general a partir de un mínimo de información propia y con base en problemas virales similares que se presentan en otras latitudes, se delinea el programa de manejo, que se espera mejorar a medida que se alcanza un mayor volumen de conocimiento local. Este programa se debe constituir desde diferentes prácticas que abarquen la complejidad de la problemática con diversos enfoques (biológico, agronómico, social, económico, entre otros).

Los programas de manejo integrado de enfermedades virales que se constituyen entonces, para cada caso en particular, incluyen un conjunto de prácticas, muchas de las cuales se pueden clasificar según diferentes categorías, dada la transversalidad de su efectos. Sin embargo, con ánimo pedagógico, se pueden dividir en: de exclusión, culturales, de resistencia genética, de manejo de vectores y otros sistemas de transmisión y, por último, regulatorias.

Es importante anotar que la aplicabilidad de algunas de estas prácticas y su disponibilidad en diferentes países depende de los sistemas de cultivo empleados; son, por ejemplo, útiles para cultivos semestrales, pero no para explotaciones perennes o viceversa.

Las prácticas citadas están transversalmente apoyadas en la disponibilidad de sistemas de diagnóstico y de detección asintomática de los virus, lo que, por ende, representa la piedra angular del manejo de las enfermedades virales. En el apéndice se incluyen diagramas que explican algunas de estas metodologías serológicas y moleculares de detección viral, como pruebas de ELISA, y la estructura de los anticuer-

pos que se usan para ellas (apéndice 1), la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (apéndice 2), la retro-transcripción acoplada a la PCR (RT-PCR) (apéndice 3) y la PCR en tiempo real (qPCR) que utiliza sondas Taqman y el sistema SYBR Green (apéndice 4).

Prácticas de exclusión

Estas prácticas se definen como aquellas que buscan evitar la llegada de un virus a un país, región o a un cultivo en particular. Alternativamente, cuando el virus ya está presente, corresponden a las medidas que buscan la disminución de sus fuentes de inóculo.

En el primer caso se requiere la integración de las prácticas con aquellas de origen regulatorio (que pueden ser también consideradas como de exclusión), y es necesario establecer medidas cuarentenarias externas o internas, dependiendo de la delimitación geográfica del problema viral. A continuación se detallan algunas de las prácticas de exclusión.

{ 158 }

Establecimiento de listados de virus cuarentenarios para un país, provincia o región

Las agencias estatales de sanidad vegetal son responsables de estos listados, en especial en el contexto actual de tratados de libre comercio internacional. Sin embargo, aquellos gremios de agricultores organizados pueden establecer sus propias listas como resultado de su experiencia y asistencia técnica privada, de manera que se complementen con las acciones de los gobiernos sobre el particular.

Sistemas de detección sensibles y eficientes en puntos fronterizos

Este aspecto es especialmente débil o inexistente en muchos países tropicales y subtropicales, por problemas económicos u organizacionales. Sin

embargo, los agricultores y la sociedad en general deben considerar como prioritario, para salvaguardar su soberanía alimentaria, que al menos en los sitios de mayor tráfico agrícola internacional o interprovincial existan las facilidades anotadas.

Siembra de semilla sexual o asexual certificada por su sanidad viral

En caso de no contar con materiales de siembra certificados (como ocurre en muchos países tropicales para diversos cultivos), se debe velar por la siembra de semilla de procedencia conocida y, preferiblemente, tratada por termoterapia (cuando esto aplique), que garantice bajos niveles de infección viral.

Sobre este aspecto, es fundamental para nuestros países contar con bancos de plantas madres libres de virus, que sean directamente operados por los gobiernos o por agremiaciones y cooperativas de agricultores con apoyo estatal. Una práctica como esta con seguridad redundará en un gran impacto sobre la sanidad general de los cultivos.

Un claro ejemplo del efecto positivo que trae la utilización de plantas madre libres de virus como base para la propagación de cultivos comerciales ocurre con el cultivo de la papa. Se parte de la propagación de meristemos que pueden ser tratados por métodos complementarios de crioterapia, termoterapia o quimioterapia para erradicar los posibles virus presentes en dichos materiales. Los meristemos se pueden obtener de plántulas mantenidas *in vitro* o directamente de brotes de tubérculos. Si es este el caso, cuando los brotes alcanzan ~4 cm de longitud, se procede a su remoción, se desinfectan con etanol 75% e hipoclorito de sodio 1-3% (en algunas oportunidades con una solución de 0,1% HgCl por 3-4 min), se cortan los meristemos con dos primordios foliares de 0,1 a 0,3 mm y se mantienen en medio MCM (Murashige y Skoog con 3% de sacarosa y 6 g/l agar, suplementado con auxinas, citoquininas y giberelinas en combinaciones y concentraciones que dependen de cada material vegetal).

Los cultivos así establecidos se mantienen entre 22 y 24 °C con fotoperiodo de 16 h e intensidad de luz de 2 Klux, con empleo de tubos fluorescentes de color blanco. Luego de 3 a 17 semanas de siembra (dependiendo del material vegetal), se evalúa la presencia de virus en los nuevos brotes mediante técnicas biológicas (por ejemplo, inoculación en plantas indicadoras), serológicas (como pruebas de ELISA) o moleculares (dot-blot, RT-PCR, entre otros). Aquellos materiales que resulten libres de virus son luego micropropagados para dar origen a tubérculos preélite y élite.

En la propagación *in vitro* de plantas es fundamental confirmar la limpieza del material resultante. Para la papa, por ejemplo, existen eventos como aquel reportado en China por Wang y colaboradores (2011) donde las pruebas realizadas sobre plántulas obtenidas por cultivo de meristemos en las principales regiones productoras del tubérculo registraron infección de PLRV (hasta 3%), PVS (hasta 20,7%), PVX (hasta 17%) y PVY (hasta 18%).

Eliminación en los cultivos de plantas con síntomas virales

Esta práctica se debe efectuar, de preferencia, con una periodicidad semanal y evitar la dispersión de vectores o el contacto mecánico de las plantas erradicadas con aquellas sanas. Por supuesto, cuando el nivel de incidencia de la enfermedad es alto, resulta poco realista pensar que se va a eliminar todo el cultivo, pero sí se puede considerar la realización de otro tipo de prácticas como la rotación o el descanso de los lotes (figura 110).

Retraso de la llegada de vectores

En caso de que ya se presenten los vectores de virus en las zonas de cultivo, es necesario establecer prácticas que retrasen su establecimiento en los lotes de siembra. Estas medidas son fundamentales cuando se ha definido con claridad la condición de vector de un virus determinado.



FOTOS: (a) autores (b) Oumar Traore

Figura 110. La práctica de identificación y eliminación de plantas infectadas por enfermedades virales es clave para evitar focos de enfermedad en los cultivos. a. Lote de papa con plantas con amarillamiento de venas causado por *Potato yellow vein virus* (PVYV) que es fácil de identificar y susceptible de eliminación temprana; b. Campo de arroz con sintomatología de amarillamiento general causado por *Rice yellow mottle virus* (RYMV); en la fase que se registra, resulta poco práctico eliminar las plantas sintomáticas.

{ 159 }

Varias técnicas contribuyen a consolidar esta labor: el establecimiento de barreras vivas o artificiales (plásticos, telas agrícolas) en los bordes de los cultivos (si es aplicable) (figura 111), y el tratamiento directo de semillas sexuales o asexuales con insecticidas, nematocidas o fungicidas sistémicos (dependiendo del vector), que al menos por un tiempo reduzcan el número de plántulas visitadas por los vectores y que, dada su aplicación local, sean más amigables con el ambiente que las aplicaciones generalizadas de estos productos. Además, prácticas como la solarización, aplicación de controladores biológicos, adición de materia orgánica compostada y la labranza pueden reducir las poblaciones de vectores habitantes del suelo como nematodos, hongos y protozoarios.

Como conclusión podríamos decir que aplicar prácticas de exclusión busca evitar la llegada o el establecimiento de los virus y sus vectores en los

cultivos y que, por ello, cualquier medida que aporte a la consecución de ese objetivo será de gran utilidad para el manejo de las enfermedades respectivas.

FOTOS: autores



{ 160 } **Figura 111.** a. El uso de barreras vivas puede ser una práctica útil para evitar la llegada masiva de vectores de virus a los cultivos; b. sin embargo, una mala selección con plantas hospedantes alternas de los virus del cultivo principal puede ser perjudicial. En el caso que se ilustra, plantas silvestres de cucurbitáceas son fuente de inóculo de CMV para diferentes frutales tropicales.

Prácticas culturales

Desde el punto de vista fitopatológico, las prácticas culturales son las actividades e intervenciones hechas a los agroecosistemas, realizadas por los agricultores, con el fin de propiciar, mejorar o corregir el estado fitosanitario de los cultivos. Por esto, es frecuente encontrar que el efecto de una práctica determinada genere impactos no sólo sobre un patógeno en particular, sino sobre diferentes agentes causales e incluso sobre insectos plagas y plantas arvenses indeseables.

Para el caso de los problemas virales, dichas prácticas se pueden dividir en preventivas y correctivas. Las primeras corresponden a todos los esfuerzos

que realiza el agricultor y sus asistentes técnicos para evitar la llegada, el establecimiento o el desarrollo de las enfermedades y, por eso, requieren una planeación previa basada en la información disponible sobre los problemas virales prevalentes en una región en particular y en la experiencia propia lograda por los agricultores sobre el manejo de estos problemas.

Las prácticas correctivas se refieren, en el caso viral, no a la eliminación o tratamiento químico del patógeno con productos curativos (hasta el momento no existen productos viricidas de uso comercial agrícola), como en el caso de enfermedades fungosas y algunas bacterianas, sino más bien a las acciones que se emprendan para disminuir los niveles de dispersión de los virus y, por ende, de sus vectores, de manera que no representen pérdidas económicas para los cultivos.

Prácticas culturales preventivas

Planeación de la fecha de siembra

Se trata de una actividad fundamental para el manejo de enfermedades virales cuyos agentes causales son transmitidos eficientemente por insectos vectores, en especial áfidos, pues busca establecer las épocas en las que se presenten las menores densidades poblacionales de los vectores en un área determinada y, a la vez, favorecer el desarrollo adecuado de las plantas.

Por supuesto, la planeación de la fecha está más dirigida a zonas subtropicales y zonas altas en las regiones tropicales, por cuanto para las condiciones del trópico bajo, donde con frecuencia se presentan periodos de precipitación bimodales, la selección de las épocas de siembra está limitada por el inicio de los periodos lluviosos. Se presentan como excepción los cultivos de alto valor (como frutales de exportación) en los que se cuenta con riego suplementario que, además, puede ayudar a disminuir la población de vectores artrópodos, o evitar el estrés hídrico de las plantas y, por consiguiente, disminuir la susceptibilidad a la infección por diferentes fitopatógenos.

Establecimiento óptimo del cultivo

Esta actividad se refiere a la definición óptima de las densidades de siembra y a la orientación adecuada de los surcos o eras, con base en las direcciones predominantes de los vientos en cada época, de manera que se evite la llegada masiva de vectores por esta vía. Dicha estrategia puede ser complementada con la ubicación de barreras artificiales o naturales que ofrezcan resistencia al viento y, por tanto, disminuyan la cantidad de individuos de vectores o al menos retrasen su establecimiento en los cultivos. Como se indicó, cuando se utilizan barreras vivas, es importante emplear especies vegetales que no sirvan de hospedantes alternos de virus o vectores, de otros patógenos y plagas del cultivo principal.

Con respecto a las densidades de siembra, diferentes estudios presentan resultados contradictorios sobre el efecto de las poblaciones de plantas en relación con las pérdidas causadas por los virus en los cultivos. Así, por ejemplo, en algunos casos se ha encontrado que altas densidades desfavorecen el movimiento de vectores y, en consecuencia, disminuyen la tasa de transmisión de los virus, mientras que en otros casos, las menores densidades favorecen el efecto de compensación en las plantas no infectadas con virus, que tendrán menor competencia de sus plantas vecinas infectadas, dado el menor desarrollo de estas últimas (figura 112).

En forma similar, el manejo adecuado de la nutrición de las plantas, a partir de recomendaciones derivadas de análisis químicos de suelos y tejidos, resulta fundamental para evitar el exceso de algunos elementos como el nitrógeno, que favorece el ataque de insectos o de hongos. Así mismo, las deficiencias de nutrientes, tales como aquellas de algunos elementos menores (Mn, Fe, Cu, etc.), que son fundamentales para el buen funcionamiento enzimático de las plantas, en especial de aquellos procesos de defensa, deben ser corregidas con celeridad en los cultivos.

Por lo descrito, de nuevo el tipo de enfermedad viral y la experiencia propia de los agricultores serán la mejor guía para definir las óptimas condiciones de siembra.



Figura 112. La presencia de plantas infectadas por virus en los cultivos puede conducir a un efecto de compensación en las plantas sanas, al presentar menores niveles de competencia. En ambas fotografías se puede observar el poco desarrollo de plantas infectadas por *Potato leafroll virus* (PLRV), en comparación con las plantas asintomáticas que las rodean.

FOTOS: (a) autores (b) Carlos Chuquillanqui

{ 161 }

Otra práctica cultural consiste en la adecuada preparación de los suelos y en particular de los sitios de siembra. Es necesario un control previo de arvenses y, cuando sea conveniente, la aplicación de productos biológicos o químicos que limiten el establecimiento de vectores habitantes del suelo, como nematodos, hongos y algunos plasmodiofóridos (figura 113).



Figura 113. La preparación adecuada de sitios de siembra para el establecimiento de frutales es una práctica de gran valor no solo para efectos nutricionales, al evitar competencia de arvenses con las plantas en desarrollo, sino fitosanitarios, al disminuir la presencia de posibles hospedantes alternos de virus.

FOTO: autores

Selección de material de siembra

Esta práctica es transversal a diferentes estrategias de manejo y, como se ha indicado varias veces, es un aspecto clave para el control de las enfermedades virales. Se incluye como práctica cultural porque las metodologías de selección de los materiales de siembra sexuales o asexuales (dependiendo del cultivo) hacen parte del quehacer fundamental del agricultor y de sus asistentes técnicos (figura 114).

En países en desarrollo se da por hecho que este proceso parte de la adquisición de los materiales en compañías de semillas o en cooperativas de agricultores, con supervisión estatal. Sin embargo, en países en vía de desarrollo, el control estatal sobre este aspecto puede no ser el óptimo, y las cooperativas y agremiaciones de agricultores de cultivos no industriales por lo general no tienen el tipo de organización ni el músculo económico para desarrollar o mantener bancos de propagación que ofrezcan materiales certificados; es frecuente la presencia de viveros que comercializan materiales sin contar con las medidas mínimas que garantizan los estándares de sanidad del material de propagación (figuras 115 y 116).

Por lo común, los agricultores por problemas económicos o, incluso, educativos, con frecuencia obtienen el material de propagación de sus propios cultivos y emplean criterios de selección que no siempre priorizan la condición sanitaria. Sobre este último aspecto, aun cuando el agricultor considere esta situación con seriedad, la dificultad para acceder o adquirir pruebas de detección viral de alta sensibilidad es una limitante definitiva para alcanzar un buen material de propagación. Por esta razón, en este texto insistimos en que el desarrollo de los métodos de diagnóstico y su socialización para llegar a pequeños agricultores y a diferentes cultivos es una decisión que debe ser coordinada por el gobierno central y local con apoyo de universidades, centros de investigación y de los propios gremios de productores, de manera que, en conjunto, cada vez se alcancen mayores estándares en las características de las semillas (figura 117).



FOTOS: autores

Figura 114. a. Cultivo de papa con mezclas varietales (flores blancas y moradas) resultado de las deficiencias en las prácticas de selección y certificación de tubérculo-semilla en diferentes países tropicales y subtropicales; b. Tubérculos de papa con vejigas iniciales asociadas a la presencia de *Spongospora subterranea*, plasmodiofórido vector del Potato mop-top virus (PMTV).



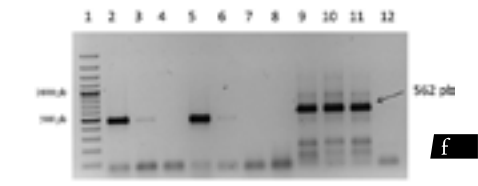
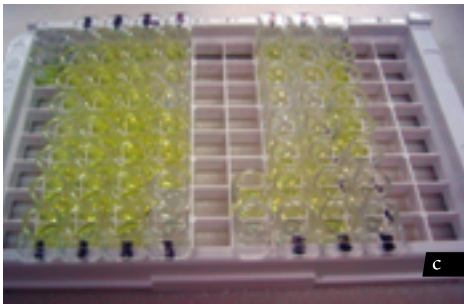
FOTOS: autores

Figura 115. Bancos de propagación de plantas. a. Sin protección efectiva contra posibles vectores de virus; b. Con malla antiáfidos para evitar la llegada y dispersión de virus.

FOTOS: autores



Figura 116. Establecimiento de plantas madre de banano en cobertizos artesanales para propagar plantas libres de *Banana streak virus* (BSV).



FOTOS: autores

Figura 117. a. Laboratorio de diagnóstico de virus; b-c. Reactivos, kits; d. Equipos especializados para realizar pruebas serológicas como lectores de ELISA; e. Pruebas moleculares como termocicladores; f. RT-PCR.

En ese orden, no está de más recordar que semillas de calidad generan plantas de calidad y ellas, a su turno, productos de calidad, que redundan en mejores precios de venta para productores y mejores alimentos para los consumidores, así como en óptimas fibras e insumos para la industria.

Tratamiento de material de siembra

Para diferentes materiales de propagación (en especial asexual) se han desarrollado metodologías de termoterapia que utilizan flujo de aire caliente o inmersión en agua caliente (casi siempre entre 36 y 40 °C) como un medio para reducir los niveles de inóculo viral y de otros patógenos (por ejemplo, bacterias). Por supuesto, la efectividad de estos tratamientos depende de su inocuidad sobre la semilla y su proceso de germinación. También, resultan útiles los tratamientos a las semillas con insecticidas sistémicos, con el fin de reducir el establecimiento de insectos vectores (en particular, de aquellos con transmisión persistente) durante las primeras etapas de desarrollo del cultivo (figura 118).

{ 164 }



FOTOS: (a) autores (b) Jorge Tenorio

Figura 118. a. Semillas certificadas de frijol tratadas por productos insecticidas y fungicidas para evitar plagas y patógenos del suelo y tener un efecto residual insecticida durante los primeros estados de desarrollo de las plántulas; b. Selección y limpieza de porciones de cormos de banano para el establecimiento de bancos de plantas madres libres de *Banana streak virus* (BSV).

Podas de formación y fitosanitarias

Estas actividades pretenden reducir los niveles de humedad en el microclima interno de las plantas, así como el exceso de follaje que favorece el contacto de ramas dentro y entre plantas, y de ellas con los operarios de los cultivos, para no beneficiar la transmisión por contacto de algunos virus altamente estables.

Además, la aireación interna de las plantas y la eliminación de ramas u hojas con problemas fitosanitarios o entomológicos ayuda a disminuir las tasas de progreso de enfermedades micóticas y bacterianas, y de las poblaciones de los posibles vectores de virus, de manera que no se reduzca el vigor de las plantas y sus capacidades innatas de defensa ante otros problemas, como los virales (figura 119).

Rotación de cultivos

Esta práctica ha sido probada por nuestros ancestros en las regiones tropicales como una de las más efectivas para el manejo de enfermedades de diferente etiología, así como de plagas agrícolas. Su principio es simple pero sustentado en conceptos biológicos universales: la eliminación temporal de material vegetal susceptible a un patógeno o plaga en particular afectará las tasas de reproducción, dispersión y sobrevivencia y favorecerá el surgimiento de una microflora supresiva en los suelos. Esta práctica es útil en especial para el manejo de patógenos obligados como los virus y viroides, al no contar con estructuras de resistencia externas a sus hospedantes. Por esto, siempre que sea posible, la rotación de cultivos será muy deseable desde el punto de vista fitosanitario, edáfico y ambiental (figura 120).

FOTO: : autores



Figura 119. Poda de formación en frutales, que favorece la aireación interna de las plantas y facilita los procesos de recolección y cosecha de frutos.

Prácticas culturales correctivas

Eliminación de focos de enfermedad

Esta práctica es otro factor clave para el manejo de las enfermedades virales, aunque su efectividad depende del momento en que se realice. Es decir, será útil cuando la detección de plantas con síntomas virales es temprana y en un contexto de siembra de material vegetal libre de virus pues, si ocurre lo contrario (siembra de material infectado), se tendrá que eliminar virtualmente todo el cultivo, lo que es fácil de decir pero difícil de aplicar, dados los costos económicos a que ello implica.

En la ejecución de esta práctica se debe evitar la dispersión de vectores en los focos de infección y

FOTO: : autores



Figura 120. Rotación de un cultivo semiperenne (tamarillo) con uno semestral (frijol), con el uso de los tallos del primero como tutores. La rotación es un proceso técnico que requiere considerar aspectos edáficos, fitopatológicos, entomológicos.

el contacto de las plantas eliminadas con las sanas. Se recomienda realizar tratamiento dirigido con herbicidas sobre los focos o, como alternativa, la eliminación manual de cada planta, que se introduce por completo en una bolsa o recipiente, de manera que al transitar por el cultivo no se incurra en un proceso de dispersión viral. Luego, en los sitios de disposición, se puede emplear la incineración o, también, usar el material para compostaje pero según criterios técnicos.

Reducción de poblaciones de vectores

Una vez establecidos los vectores de virus de importancia económica en un cultivo, se buscará reducir sus poblaciones tanto en los hospedantes agrícolas como en las plantas arvenses. En ese sentido, se utilizarán las diferentes estrategias que plantea la entomología, como el empleo de controladores biológicos y la aplicación dirigida (no generalizada) de insecticidas. Por supuesto, dichas aplicaciones dependen de criterios económicos de costo/beneficio/impacto ambiental (figura 121).

{ 165 }



FOTOS: Óscar Ortega

Figura 121. Infestación de áfidos en plantas arvenses, que pueden servir de fuente de inóculo de patógenos virales para los cultivos agrícolas.

Resistencia genética

No hay duda de que la siembra de materiales resistentes a virus en ambientes libres de vectores son dos puntos clave para el éxito en el manejo de las enfermedades de origen viral. Infortunadamente, esto no se ha logrado en muchos cultivos y condiciones tropicales y subtropicales.

La búsqueda de fuentes de resistencia a virus (o a sus vectores) en materiales silvestres presentes en los centros de origen de las plantas cultivadas se puede calificar como exitosa en muchos casos; sin embargo, un camino largo y complejo se debe recorrer para la incorporación de dichas baterías genéticas de resistencia a materiales agrónomicamente viables y aceptados en el comercio.

{ 166 }

La meta se alcanza cuando en los países se cuentan con programas de mejoramiento vegetal científicamente establecidos y con estabilidad presupuestal. Por fortuna, el CGIAR ha identificado, desde el nacimiento de sus centros de investigación multilateral, este aspecto como un factor determinante para apoyar los sistemas agrícolas de las regiones en desarrollo. Como resultado de sus programas, se han entregado diferentes variedades con resistencia a virus de importancia económica, como el de la hoja blanca del arroz y diversos virus del frijol y la yuca.

Del mismo modo, otros organismos de investigación local como Embrapa en Brasil, ARC (The Agricultural Research Council) en Sudáfrica y Corpoica (y anteriormente ICA) en Colombia tienen programas de avanzada que buscan generar diferentes materiales vegetales con resistencia a virus y a otros fitopatógenos.

En la actualidad, los materiales mejorados se pueden obtener por medio de sistemas convencionales de cruzamiento o por transgénesis. Este último sistema se ha probado como efectivo para problemas tan limitantes como el PRSV y TMV; sin embargo, diversos países tienen limitaciones al respecto, por los posibles riesgos para el ambiente y la salud pública que pueden aparecer, tal como se discutió en el capítulo anterior.

Es necesario llamar la atención sobre la necesidad que tienen los agricultores y sus asistentes técnicos de indagar en sus regiones sobre la disponibilidad de materiales resistentes a virus, que sean competitivos en el mercado. En la cuarta sección del libro, en la cual describen virus de importancia económica en cultivos tropicales y subtropicales, se indican ejemplos de materiales vegetales resistentes.

Ahora bien, desde la virología vegetal, es fundamental el apoyo de dichos programas de mejoramiento genético a partir del desarrollo de métodos altamente sensibles de detección y cuantificación de título viral, diseño de escalas de evaluación de incidencia y severidad de enfermedades, selección de variantes virales para su evaluación en los materiales resultado de los procesos de mejoramiento, desarrollo e implementación de métodos de inoculación viral y evaluación de las tasas de replicación y movimiento sistémico de los virus en los diferentes materiales, entre otros aspectos.

Prácticas de manejo de vectores y otros sistemas de transmisión viral

Estas prácticas se pueden perfectamente distribuir en las categorías antes mencionadas. Sin embargo, dada su importancia para el manejo de las enfermedades virales, se tratarán en forma independiente, así se incurra en cierto nivel de redundancia.

La aplicación de tales prácticas se basa en el principio que indica que, en ausencia de resistencia genética, el ataque de las fuentes de transmisión viral representa la estrategia fundamental en el manejo de enfermedades provocadas por ellos. Por eso, métodos ya mencionados como la siembra de semilla sexual y asexual libre de virus, la eliminación temprana (mejor antes de la siembra) de reservorios naturales de vectores artrópodos de virus, el tratamiento de herramientas de trabajo con productos desinfectantes que impidan la transmisión mecánica de virus, el tratamiento de semilla con insecticidas, nematicidas o fungicidas

sistémicos y la selección de períodos de siembra que brinden condiciones climáticas que desfavorezcan la reproducción de los vectores deben ser siempre tenidos en cuenta.

Al tiempo, se ha encontrado que en algunos sistemas de cultivo (como los frutales semiperennes o perennes), la utilización de barreras artificiales o vivas que impidan o retrasen la llegada de los vectores puede ser efectiva, cuando se combina, además, con el uso de láminas de aluminio en las calles de los cultivos que reflejan los rayos solares, práctica que se sabe que afecta la llegada y el establecimiento de las poblaciones de vectores en las plantas cercanas, especialmente de áfidos.

La aplicación constante de reguladores biológicos (control biológico) es deseable por su sostenibilidad ambiental en lo referente al manejo de las poblaciones de los vectores. Sin embargo, el éxito de esta técnica no debe ser medido a corto plazo, sino, en varios ciclos de cultivo, y también depende de la aplicación habitual de los biorreguladores y de su monitoreo constante en el campo.

Finalmente, la utilización de insecticidas de contacto puede ser efectiva, siempre y cuando se realice de forma dirigida (no generalizada) en las zonas de mayores densidades de insectos vectores en los cultivos y cuando la transmisión que realicen esos vectores sea persistente o semipersistente, pues se ha comprobado en diferentes evaluaciones que, para el caso de no persistentes, dicha práctica es ineficiente, dados los tiempos mínimos (por ejemplo, de segundos) requeridos para inocular los virus por parte de estos vectores.

Hay que considerar también que siempre que se aplique un insecticida se debe sopesar el fenómeno de

resistencia a moléculas químicas, que opera de una forma dramática en insectos como moscas blancas y trips. Se deben seguir las recomendaciones que para tal fin se plantean desde la entomología, como las mezclas de ingredientes activos, el número máximo permitido de aplicaciones de una molécula por ciclo de cultivo, las densidades poblacionales mínimas y máximas para realizar la aplicación y los niveles de cobertura de las aplicaciones, entre otras.

Prácticas regulatorias

Definitivamente, el manejo fitosanitario de los cultivos es una actividad que requiere la acción conjunta de las comunidades y, por ende, de los agricultores en una región determinada. Además, la intervención del Estado resulta fundamental para alcanzar el éxito de cualquier estrategia de control a mediana y gran escala, pues aspectos como la vigilancia cuarentenaria en puertos y fronteras, los permisos para el transporte de plantas, material de propagación o productos agrícolas, la vigilancia de los procesos de certificación de semilla, el establecimiento de calendarios de siembra y el registro de insecticidas para el tratamiento de ciertos insectos vectores deben ser correctamente reglamentados (y aplicados) con base en criterios técnicos.

Para el caso de las enfermedades de origen viral, estos esquemas de regulación son aún más importantes pues, como se ha indicado, la dispersión de los agentes causales por medio de semilla infectada, por vectores o por actividades antropogénicas, deben ser asuntos que hay que estimar para lograr el éxito en el control requerido.

{ 167 }





Características de algunos de los principales grupos taxonómicos de virus

Esta sección comprende un resumen de la taxonomía de los virus de plantas, fundamentada en el tipo de ácido nucleico del genoma, y se describen algunos de los grupos más relevantes de los mismos (familias, géneros, especies) para cultivos de las regiones tropicales y subtropicales, con énfasis en sus características moleculares.

En estos capítulos se ha utilizado como base bibliográfica el IX Reporte del ICTV (2012), *Desk encyclopedia of plant and fungal virology* (Mahy y van Regenmortel 2010), ViralZone (c2011) y diferentes artículos publicados en revistas científicas.

Capítulo XI

Virus de ssDNA

Familia *Geminiviridae*

Géneros *Curtovirus*, *Mastrevirus*, *Topocuvirus*, *Begomovirus*

Familia *Geminiviridae*

Esta familia, reconocida por el ICTV en 1978, se caracteriza por poseer genomas circulares de ssDNA entre 2,5 y 3 kb, empaquetados en una pareja de partículas cuasiisométricas gemelas (T=1, 18-20 x 30-35 nm) (figura 122).

La familia se divide en cuatro géneros (*Mastrevirus*, *Curtovirus*, *Topocuvirus* y *Begomovirus*), que se diferencian por la organización del genoma y por sus propiedades biológicas, en especial por la capacidad de afectar plantas mono o dicotiledóneas y por su tipo de vectores (como saltahojas, saltapuntas o moscas blancas).

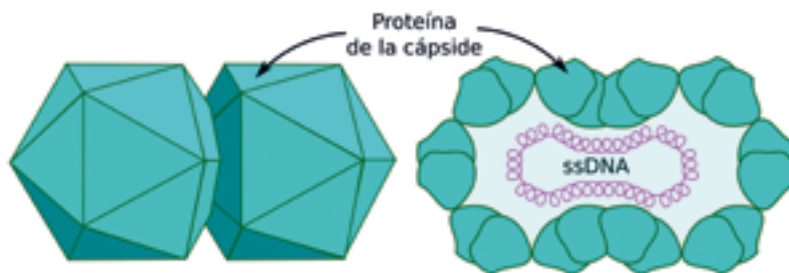


Figura 122. Estructura de viriones de geminivirus que presenta las partículas geminadas con simetría isométrica incompleta del tipo T = 1 y una sola molécula de ssDNA (genoma monopartita).

Fuente: autores

Los geminivirus con genomas monopartitas, que son transmitidos por saltahojas a plantas monocotiledóneas, hacen parte del género *Mastrevirus*, con el *Maize streak virus* (MSV) como su especie tipo. Aquellos con características similares pero que son patógenos de plantas dicotiledóneas hacen parte del género *Curtovirus*, con la especie tipo *Beet curly top virus* (BCTV). El tercer género corresponde a *Topocuvirus*, con la especie tipo *Tomato pseudo-curly top virus* (TPCTV); estos virus presentan genoma monopartita, infectan dicotiledóneas y son transmitidos por insectos saltaplantas. El cuarto género, *Begomovirus*, es el más numeroso; está conformado por virus transmitidos por la mosca blanca *Bemisia tabaci*, que afectan plantas dicotiledóneas, y el *Bean golden yellow mosaic virus* (BGYMV) es su especie tipo. Los begomovirus pueden tener genomas mono o bipartitas (componentes A y B).

En general, el genoma de los begomovirus monopartitas, o el componente A de los bipartitas, tiene de cuatro a seis ORF. El ORF AVI codifica para CP que, además de cumplir su función protectora, es

clave para la transmisión por las moscas blancas y para el movimiento sistémico en las plantas. El ORF AC1 codifica para Rep, una proteína de inicio de la replicación, mientras que el AC2 codifica para un factor de transcripción requerido para la expresión de la cadena con sentido y cuyo producto también actúa como supresor de silenciamiento de genes del hospedante. El ORF AC3 codifica para una proteína potenciadora (*enhancer*) de la replicación. Finalmente, el movimiento sistémico de los begomovirus está mediado por proteínas codificadas por los ORF v2 y c4, este último también asociado con la severidad de los síntomas que inducen los virus en cuestión en sus hospedantes. El componente B de los begomovirus bipartitas codifica para los ORF BVI y BCI, responsables del movimiento célula-célula de los virus y del transporte citoplasma-núcleo del ssDNA, respectivamente (figura 123).

La replicación de los geminivirus ocurre a través de intermediarios de doble cadena, por un mecanismo de círculo rodante (figura 124). La síntesis del

{ 170 }

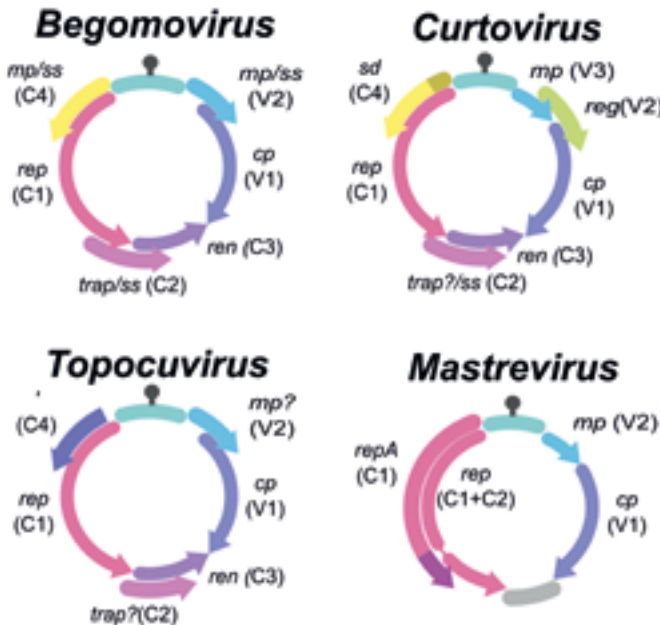


Figura 123. Estructura genómica de virus representantes de los cuatro géneros de la familia *Geminiviridae*. Su puede observar la presencia de ORF con diferente orientación en los genomas circulares de ssDNA.

Basado en: Varsani et al. 2009

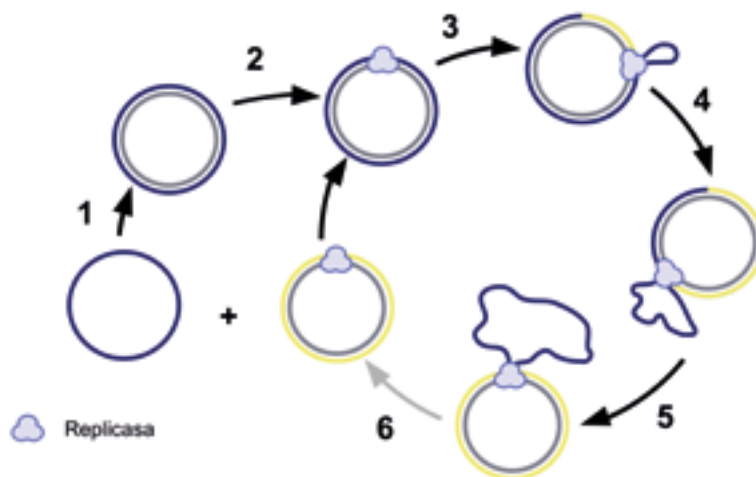


Figura 124. Diagrama del proceso de replicación por círculo rodante de virus con ssDNA como genoma. La cadena vs se convierte a dsDNA por las polimerasas de DNA del hospedante (1). Luego de la expresión de la proteína Rep, esta se une y genera rupturas (*nicks*) en la cadena vs (2) y se da inicio al proceso de replicación, que provoca desplazamiento de la cadena vc y la generación de las nuevas copias del genoma de ssDNA (3, 4, 5). Finalmente, comienza un nuevo ciclo de replicación que dará origen a nuevas copias vs (6).

Basado en: ViralZone c2011

DNA complementario a la cadena encapsidada (*virion-sense-vs*) depende de diferentes factores del hospedante, por cuanto dichos virus no codifican para su propia replicasa. La síntesis de ssDNA se inicia por el clivaje de la cadena con sentido (vs) por la proteína Rep en la secuencia conservada TAATATT/AC, localizada en una lupa de la región intergénica de alrededor de 300 bases.

Desde el punto de vista agronómico, los geminivirus se consideran virus emergentes, ya que su importancia económica es relativamente reciente como resultado de la expansión de las poblaciones de sus vectores en diferentes lugares del mundo, el incremento del comercio internacional que favorece la introducción de hospedantes, vectores y virus en nuevos agroecosistemas y el cambio climático global. Los geminivirus se presentan en una gran diversidad de cultivos como maíz, trigo, algodón, tomate, frijol, papa y diferentes especies de plantas ornamentales.

Los dos géneros de la familia *Geminiviridae* que presentan mayor importancia para las regiones tropicales son *Mastrevirus* y *Begomovirus*.

Mastrevirus

Son virus con genoma monopartita de ssDNA circular de 2,6 a 2,8 kb, transmitidos por saltahojas de la familia *Cicadellidae*, por lo general en forma persistente y circulativa, pero no propagativa. Es muy específica la relación entre cada uno de los mastrevirus y su vector; estos virus no se transmiten mecánicamente.

Hasta el momento solo se han reportado en el hemisferio oriental, tanto en la región tropical como templada. Los cereales y diferentes pastos de la familia *Poaceae* son sus principales hospedantes, aunque el *Tobacco yellow dwarf virus* (TYDV) y *Bean yellow dwarf virus* (BYDV) infectan algunas plantas solanáceas y fabáceas, respectivamente.

Por lo general los síntomas que inducen corresponden a clorosis intervenales que toman apariencia de rayados; es más frecuente su aparición en hojas cercanas a los brotes apicales (figura 125). Además, las venas pueden presentar deformaciones y cambios de coloración (casi siempre aclaramiento). En estados avanzados de la enfermedad, las plantas se presentan

enanas y con pérdida de vigor. Es habitual que los mastrevirus induzcan la formación de agregados en el núcleo de las células hospedantes que se pueden también presentar en vacuolas y citoplasma.



FOTO: Dionne Shepherd

Figura 125. Síntomas de rayados foliares causados por *Maize streak virus* (MSV) en plantas de maíz.

A diferencia de los otros géneros de la familia *Geminiviridae*, los mastrevirus presentan dos proteínas Rep: repA, producida a partir del transcrito CI, y Rep, generada por lectura continua de los transcritos CI:C2. Además, el genoma de este grupo contiene intrones.

{ 172 }

Para la diferenciación de especies se utilizan como principal criterio los niveles de identidad en el genoma inferiores al 75%, lo que indica la existencia de una gran variación intraespecífica en este género, si se tiene en cuenta que para los géneros restantes de la familia se utiliza como criterio un porcentaje inferior al 89%.

Hasta el IX Reporte del ICTV, se habían registrado 14 especies de virus aprobadas para este género, así como la proposición de siete especies adicionales. Las secuencias del genoma de la especie tipo MSV provenientes de aislamientos africanos se encuentran en GenBank con las accesiones AF329878, AF329887 y EU628627.

Algunas de las especies de mayor importancia económica de este género son el MSV en África subsahariana y en las islas del océano Índico (Madagascar, Mauricio, Reunión, entre otras), *Sugarcane streak virus* (SSV) en la región de Natal (Sudáfrica) y *Bean yellow dwarf virus* (BYDV) en el subcontinente indio.

Begomovirus

Son virus con genomas monopartitas (seis ORF) y bipartitas (6-8 ORF), transmitidos por moscas blancas (*Aleyrodidae*). Se presentan tanto en el hemisferio oriental (ambos tipos de genomas) como en el occidental (solo bipartitas). *Bemisia tabaci* muestra una considerable variación genética que conduce a la diferenciación de haplotipos en sus poblaciones; es frecuente encontrar una estrecha coevolución entre un biotipo del vector y una especie particular de begomovirus. Algunos virus como el BGMV y el *Mungbean yellow mosaic virus* (MYMV) pueden también ser transmitidos de forma mecánica.

Por lo general, estos virus causan mosaicos, amarillamiento o moteados en las hojas más nuevas, acompañados por enrollamiento foliar, y en algunos casos enaciones, manchas necróticas y clorosis de venas (figura 126). En estados avanzados de infección, los begomovirus inducen acortamiento de entrenudos y enanismos severos, además de cambios en los patrones de floración y fructificación de las plantas, lo que afecta directamente la calidad de sus productos comercializados.

Algunos de los begomovirus monopartita se presentan asociados con uno o más tipos de moléculas satélites de cerca de 1,3 kb, que no tienen secuencias begomovirales, con excepción de una región de 9 nt (TAATATTAC) que simula la región de origen de replicación del genoma del virus principal. Sin embargo, se ha encontrado que el satélite beta (DNA β) codifica para una proteína de localización nuclear asociada con supresión de silenciamiento de genes en las plantas hospedantes. Por esto, en ausencia de su satélite, el virus principal puede reducir su agresividad o incluso ser incapaz de establecer su ciclo infectivo. Los satélites, por su parte, dependen del virus principal para su replicación y encapsidación.

Las partículas virales de ordinario se presentan en el núcleo de las células del floema y en las del parénquima acompañante, y pueden formar agregados paracrystalinos, aunque también se han observado en

Foto: Francisco Morales



Figura 126. Síntomas de clorosis de venas y enanismos causados por *Bean golden yellow mosaic virus* (BGYMV) en plantas de frijol.

vacuolas de tubos cribosos. Estos virus casi siempre se inactivan a temperaturas entre 40 y 50 °C y pueden perder su infectividad después de uno a dos días a 20 °C, lo cual representa una condición importante para considerar cuando se trabaja con ellos a modo experimental.

Los genomas de los begomovirus bipartitas tienen dos componentes (A y B) de 2,5-2,6 kb (cada uno), y comparten una región de 200 bases en la región intergénica, que contiene la secuencia de clivaje para dar inicio a la replicación. El genoma de aquellos virus que son monopartitas es similar al componente A de los bipartitas, que codifica para cuatro proteínas. A su turno, la CP codifica en el sentido del virión (vs) y Rep, TRAP y Ren en sentido complementario (vc). El DNA B, para MP y la proteína NSP (*shuttle nuclear protein*) (figura 127).

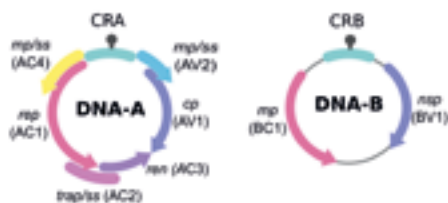


Figura 127. Estructura genómica de los begomovirus bipartitas. La región intergénica común tiene la secuencia conservada TAATATTAC (CRA y CRB). CP: proteína de cápside; Rep: proteína asociada a la replicación; TRAP: proteína activadora de la transcripción; Ren: multiplicador (*enhancer*) de la replicación; MP: proteína de movimiento; NSP: proteína de señalización nuclear (*nuclear shuttle protein*). Basada en: King et al. 2012

Los begomovirus infectan solo plantas dicotiledóneas endémicas de los trópicos y subtropicos, principalmente de las familias *Leguminosae*, *Malvaceae* y *Solanaceae*. Los criterios preferentes para la demarcación de especies en este género son la ocurrencia de niveles de identidad del genoma inferiores al 89% y al 90% para la secuencia de aminoácidos del gen CP, así como la presencia o ausencia del ORF AV2 que codifica para una proteína de movimiento.

El IX Reporte del ICTV presenta 192 especies aprobadas en el género *Begomovirus* y 86 especies propuestas. La secuencia de un genoma característico de un aislamiento de Brasil del BGMV se encuentra en GenBank con el código de acceso M88686 para el componente A y M88687 para el componente B.

Entre los muchos virus de este género de importancia económica para los trópicos se destacan el *African cassava mosaic virus* (ACMV) en cultivos de yuca (figura 128) y *Watermelon chlorotic stunt virus* (wmcsv) en cucurbitáceas, en el continente africano; BGMV en cultivos de frijol de Suramérica y Centroamérica; *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) en cultivos de tomate de todo el mundo (se resalta lo que sucede en Israel, Tailandia, Venezuela y en Florida, EE. UU.) y el complejo del *Cotton leaf curl virus* (al menos siete especies) que afectan el algodón en el subcontinente indio.

{ 173 }



Figura 128. Síntomas de mosaicos severos causados por *African cassava mosaic virus* (ACMV) en cultivos de yuca.

Foto: Francis Nkaa



Virus de dsDNA (RT)

Familia *Caulimoviridae*

Géneros *Caulimovirus*, *Cavemovirus*, *Petuvirus*, *Soymovirus*, *Badnavirus*, *Tungrovirus*

Esta familia presenta virus con dsDNA como genoma (7,2 a 9,2 kpb), pero que se replican por transcripción reversa de un intermediario de RNA, aunque para cumplir con su ciclo infectivo no necesariamente requieren la integración de su genoma en los cromosomas del hospedante, como sí ocurre con los retrovirus de animales, razón por la cual se denominan pararetrovirus.

El genoma tiene una configuración circular que se caracteriza por presentar discontinuidades (una en la cadena negativa y hasta tres en la positiva), que hacen parte de la estrategia de replicación de estos virus.

Existen dos tipos de morfologías de los viriones en la familia *Caulimoviridae*: bacilar e isométrico, lo que constituye un aspecto fundamental para su clasificación. De esta forma, los miembros de los géneros *Caulimovirus*, *Cavemovirus*, *Petuvirus* y *Soymovirus* tienen partículas isométricas de 43 a 50 nm ($T = 7$), mientras que aquellos de los géneros *Badnavirus* y *Tungrovirus* presentan formas bacilares de 30 nm de ancho y longitudes muy variables (60 a 900 nm) (figura 129). Ambos tipos de viriones carecen de envoltura externa.

Un rasgo adicional que diferencia los virus baciliformes de los icosaédricos de esta familia es la capacidad de los últimos de formar inclusiones citoplasmáticas amorfas con tamaños de hasta 20 μm de diámetro y constituidas principalmente de agregados de las proteínas p6 y p2.

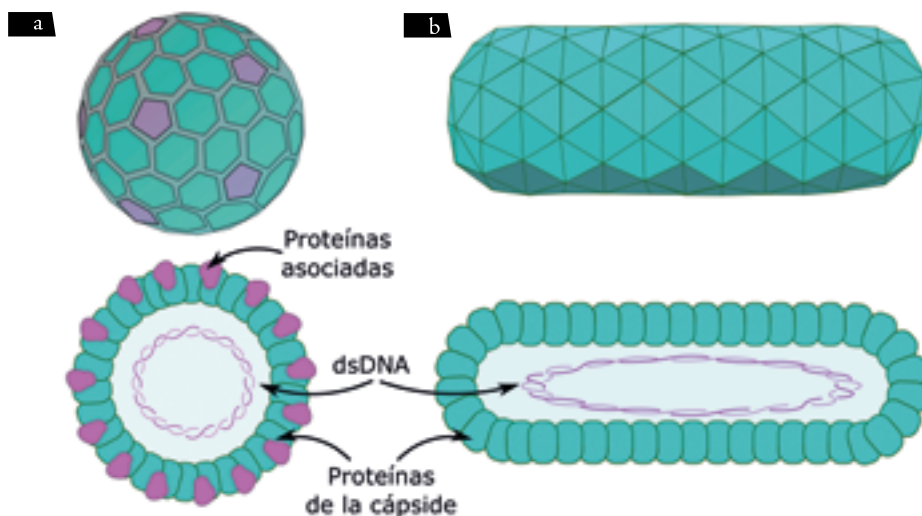


Figura 129. a. Morfología de viriones de caulimovirus isométricos (45-50 nm); b. Baciliformes (30 nm de ancho x 60-900 de largo). Ambos grupos presentan genoma de dsDNA circular con discontinuidades en ambas cadenas.

Fuente: autores

Los genomas de los caulimovirus tienen sus ORF ubicados solo en una de las cadenas (la positiva) y tienen un promotor que dirige la expresión de mRNA terminalmente redundante, siendo variable el número de ORF (de uno a ocho) presente en sus genomas. Sin embargo, en todos los géneros es común encontrar un gen para proteína de movimiento (CP), una proteína multipropósito asociada al virión, una proteasa aspártica y una RT con actividad asociada de RNasa H (figura 130).

redundante (de 35 a 270 nt), de 180 nt en *Cauliflower mosaic virus* (CaMV) y de 120 nt en *Commelina yellow mottle virus* (CoYMV).

Este RNA sintetizado se transporta de regreso al citoplasma donde sirve de molde policistrónico para la traducción de algunas de las proteínas virales o, de modo alternativo, de molde para la retrotranscripción. En dicho caso, la síntesis de la primera cadena (cDNA de cadena negativa) es cebada por la

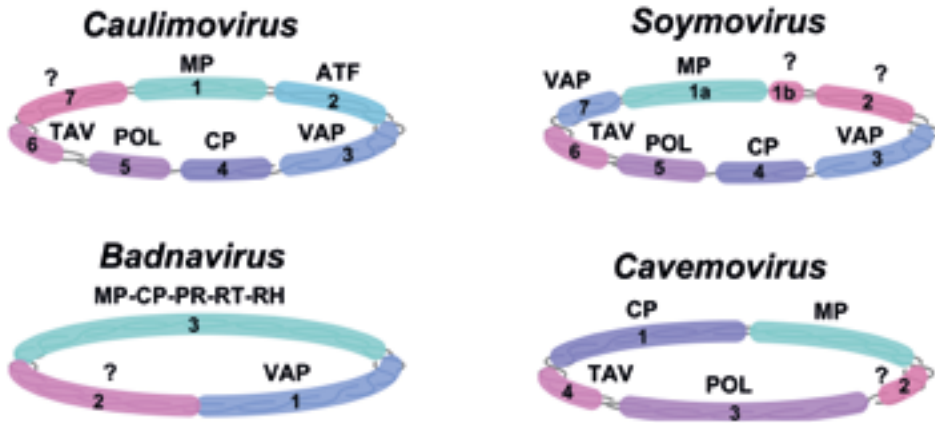


Figura 130. Organización genómica de virus de cuatro géneros de la familia Caulimoviridae. Se nota el número variable de ORF que contienen los diferentes miembros de esta familia y la estrategia de poliproteína que presentan los badnavirus. Basado en: King et al. 2012

La replicación de los caulimovirus comienza inmediatamente después de que el virus ha ingresado a la célula hospedante. El transporte del virión al núcleo ocurre gracias a una señal de localización nuclear (NLS) ubicada en el extremo terminal de CP. El virión se desensambla justo en los poros nucleares y el dsDNA, para terminar, se deposita al interior del núcleo por acción de proteínas del tipo importinas.

Luego, las discontinuidades de las cadenas se cierran de modo covalente por polimerasas del hospedante, de manera que el DNA se asocia con las histonas para formar minicromosomas, que sirven de molde para la transcripción por parte de la RNA polimerasa celular, lo que da origen a un transcrito de mayor tamaño que el genoma (35S o 34S) terminalmente

unión de un metionin-tRNA a la secuencia terminalmente redundante. Luego la actividad RNasa H de la RT degrada el extremo 5' del RNA, lo que induce a la enzima a pasar a la secuencia redundante, pero ahora ubicada en el extremo 3', y de esta forma continuar con la síntesis de la primera cadena.

Por último, la RNasa H degrada el resto del molde de RNA, deja pequeños cebadores que sirven para dar inicio a la segunda cadena (cDNA de cadena positiva) y ocurre un cambio de cadena para completar el gap entre los extremos 5' y 3' de la primera cadena. Este proceso se acompaña de la conservación de las discontinuidades originales del genoma, que se forman en sitios ricos en residuos de guaninas (figura 131).

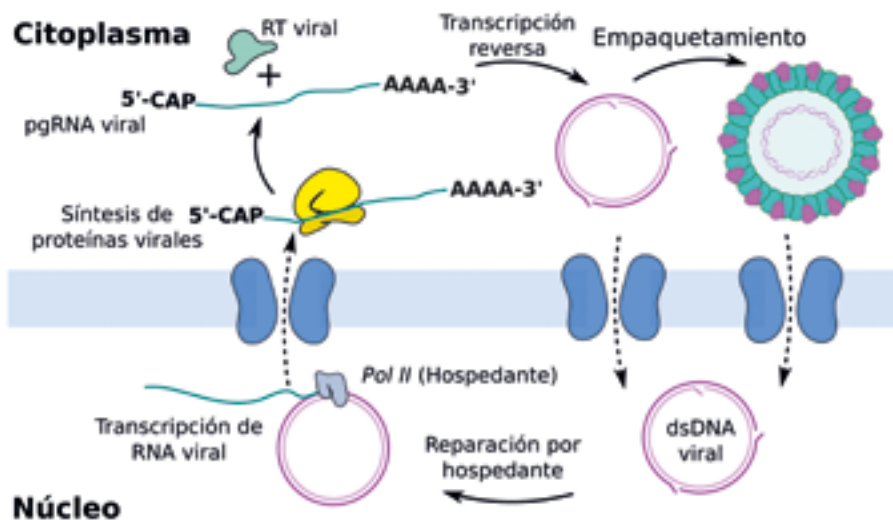


Figura 131. Mecanismo general de replicación de un pararretrovirus. El genoma de dsDNA se libera al interior del núcleo del hospedante y se sellan las discontinuidades (*gaps*) por las polimerasas celulares. Este minicromosoma sirve de molde para la síntesis de RNA pregenómico (pgrNA) por parte de la RNA polimerasa II. El pgrNA se transporta al citoplasma para dar inicio a la traducción de proteínas virales y para su posterior retrotranscripción por parte de la RT. El dsDNA resultante con sus respectivas discontinuidades se ensambla en nuevas partículas virales.

Basada en: ViralZone 2011

Algunos caulimovirus como el *Banana streak virus* (BSV), *Tobacco vein clearing virus* (TVCV) y *Petunia vein clearing virus* (PVCV) se pueden integrar en el genoma de sus hospedantes y dar origen a infecciones episomales. Es importante anotar que se ha observado que por lo general las infecciones inducidas por estos virus ocurren solo sobre híbridos de sus hospedantes y en condiciones de estrés abiótico (por ejemplo, propagación por cultivo de tejidos, deficiencias nutricionales, sequía).

La mayor parte de los miembros del género *Caulimovirus* se transmiten de forma semipersistente por áfidos; es decir, los viriones se pueden adquirir rápido, a través de los áfidos y ser inoculados inmediatamente a nuevas plantas, pero además los áfidos permanecen virulíferos hasta por tres días. Esta relación virus/vector la median los productos de los ORF 2 (P2) y 3 (P3), y se encuentra que la región N-terminal de P2 se une a un sitio en el intestino del áfido. Sin embargo, hasta el momento no se han identificado dichas interacciones para petuvirus, soymovirus y cavemovirus. Ninguno de los virus isométricos de esta familia se transmite por semillas o polen,

pero sí, con algunas excepciones (como PVCV, TVCVs), de formar mecánica y por propagación vegetativa (injertos, cormos, bulbos, esquejes, etc.).

En el caso de los badnavirus, sus vectores naturales son las cochinillas harinosas o insectos escala (*Pseudococcidae*), aunque algunas especies las transmiten los áfidos (como *Rubus yellow net virus* - RYNV, *Spirea yellow leafspot virus* - SYLSV). En cuanto al RYNV, la transmisión opera de forma semipersistente e, incluso, puede ser retenido el virus después de las mudas, como ocurre con BSV, *Sugarcane bacilliform virus* (SCBV) y *Cacao swollen shoot virus* (CSSV), entre otros (figura 132). También, algunos de los badnavirus se transmiten de modo mecánico (aunque casi siempre con poca eficiencia), así como por semilla (por ejemplo, BSV y *Kalanchoe top-spotting virus* - KTSV), aunque no es posible generalizar la transmisión por estos medios para todas las especies del género. El *Rice tungro bacilliform virus* (RTBV) depende del virus de RNA *Rice tungro spherical virus* (RTSV) para su transmisión por saltahojas y no se transmite de forma mecánica, ni por semilla o por polen.



Figura 132. Síntomas de hinchazón de brotes en cacao causados por *Cacao swollen shoot virus* (cssv).

{ 178 }

Con respecto al rango de hospedantes de los caulimovirus, que es relativamente restringido, pues por lo común una especie viral solo afecta plantas de una familia botánica o, incluso, un género determinado; esto es aún cierto para el rango experimental de hospedantes. Sin embargo, existen excepciones como el SCBV que infecta plantas de los géneros *Sorghum*, *Rottboellia*, *Panicum*, además de arroz y banano.

Los síntomas que inducen estos virus sobre sus hospedantes son muy variados, como clorosis, rayados, mosaicos, moteados, aclaramiento de venas y necrosis (figura 133). Una característica determinante de las relaciones de los caulimovirus con sus hospedantes es la inducción de la expansión de los plasmodesmos de las células infectadas, de tal manera que permitan el paso de viriones de 50 μm .



Figura 133. Síntomas de rayado foliar causados por *Banana streak virus* (bsv).

El rango geográfico de muchas de las especies de la familia *Caulimoviridae* es amplio; la mayor parte de los miembros de los géneros *Petuvirus*, *Caulimovirus*, *Soymovirus* y *Cavemovirus* se encuentran en las regiones templadas, mientras que aquellas de los géneros *Tungrovirus* y *Badnavirus* principalmente se distribuyen en las zonas tropical y subtropical, por lo que se tratan a continuación con más detalle.

Género *Badnavirus*

La especie tipo de este género es *Commelina yellow mottle virus* (comymv). Se caracteriza por su morfología bacilar con lados paralelos y extremos redondeados de 30 nm de ancho y gran variación en su longitud (60 a 900 nm). Sus genomas son de dsDNA (7,2 a 9,2 kpb) circulares pero no covalentemente cerrados, dada la presencia de una discontinuidad en cada cadena. Codifican para tres ORF; el primero produce la proteína P1, de función desconocida, mientras que el ORF2 lo hace para una proteína asociada al virión (P2) y el tercero para una poliproteína (P3) con dominios de proteína de movimiento, CP, proteasa aspártica y RT/RNasa HI (figura 134).

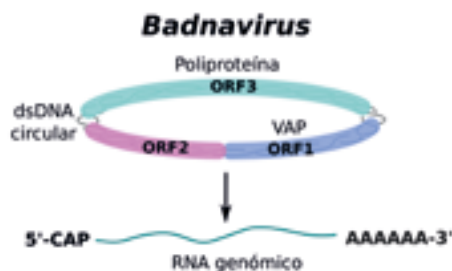


Figura 134. Genoma de dsDNA de 7,2 kb de un badnavirus que presenta tres ORF principales y se expresa por transcripción de mRNA con caperuza y cola de poli-A en sus extremos 5' y 3', respectivamente.

Fuente: autores

Algunos badnavirus pueden tener un cuarto ORF (ORF4) de función desconocida. En estos virus no se han encontrado RNA subgenómicos, pero sí el pregenoma policistrónico de mayor tamaño que el genoma viral. El ORF1 se traduce por desvío de ribosomas (*ribosome shunting*), un mecanismo de inicio de traducción que depende de la caperuza del extremo 5' del transcrito y que, luego de un escaneo del ribosoma de un ORF pequeño (ORF), sobrepasa una región interna con estructura secundaria con forma de *stem-loop* para iniciar, con posterioridad, la traducción de un ORF principal. Por su parte, los ORF 2 y 3 se traducen por *leaky scanning*.

La transmisión de los badnavirus ocurre principalmente por insectos escama (*Pseudococcidae*) (figura 135), áfidos o chinches de encaje (*Tingidae*). Estos virus no se multiplican en sus vectores ni son transováricos, pero los insectos relacionados, en todos sus estados biológicos, los pueden adquirir y transmitir.

Tal como se indicó, la transmisión mecánica y por semilla de los badnavirus es especie-dependiente. Para el caso de bsv, se ha reportado, además, la replicación viral a partir de secuencias endógenas (integradas en el genoma) en *M. balbisiana*. Por esto, los híbridos comercialmente cultivados de *M. acuminata* x *M. balbisiana* casi siempre presentan infección, en ausencia de fuentes de inóculo externas.

Los principales criterios para la delimitación de las especies de este género corresponden a las diferencias



Figura 135. a. Insectos escamas (cochinillas harinosas) transmisoras del *Banana streak virus* (bsv); b. Síntomas causados por este virus en frutos; c-d. Hojas de banano

{ 179 }

FOTO: Jorge Tenorio

en rango de hospedantes, en sus vectores y en los niveles de identidad de las secuencias que codifican para la RT.

Hasta el IX Reporte de ICTV se habían aceptado 18 especies en este género y propuesto 13 nuevas. Algunos badnavirus de importancia económica son el complejo del *Banana streak virus* (*Banana streak GF virus*, *Banana streak Mysore virus*, *Banana streak OL virus*) de distribución mundial; *Cacao swollen shoot virus* (CSSV), sobre todo en el occidente africano, y *Sugarcane bacilliform IM virus* (SCBIMV). Secuencias

de los genomas de estos virus se pueden encontrar con los números de accesión AY493509, AY805074, AJ002234, LI4546 y AJ277091, respectivamente.

Género *Tungrovirus*

Este género solo tiene hasta el momento una especie reconocida, *Rice tungro bacilliform virus* (RTBV), que tiene forma bacilar y una estructura genómica similar a los badnavirus, pero a diferencia de ellos, tiene un cuarto ORF (ORF 4) que se expresa como un RNA monocistrónico producido por *splicing* del RNA pregenómico, aunque se desconoce su función.

Sus viriones son de 30 nm de diámetro por 130 nm de largo (aunque se han encontrado aislamientos con longitudes de hasta 300 nm), con un genoma de dsDNA circular de 8 kpb y una discontinuidad en cada cadena. Se presenta una gran región intergénica entre el ORF 4 y ORF 1, así como una pequeña región intergénica entre los ORF 3 y 4. En la primera se localizan el promotor de RNA, una señal de poliadenilación y un sitio de unión de cebador a la cadena negativa. Como se indicó antes, el ORF 4 se expresa por *splicing* del RNA

pregenómico, por procesamiento de un intrón de 6.300 nt, que da origen a la fusión del _sORFA (el primer ORF pequeño) y el ORF 4 (figura 136).

El RTBV se transmite por saltahojas de los géneros *Nephotettix* y *Recilia*, aunque esto únicamente ocurre cuando tales vectores han adquirido en forma previa o simultánea el RTSV, un waikavirus de RNA.

El RTBV no se transmite de modo mecánico, ni por semilla, y hasta el momento solo se ha detectado en plantas gramíneas de *Poaceae* y *Cyperaceae*. Este virus se ha encontrado en el sudeste asiático y el subcontinente indio; provoca una fuerte reducción del desarrollo de las plantas de arroz afectadas, que presentan amarillamientos y clorosis intervenales, así como una reducción severa en el rendimiento de granos en los cultivos (figura 137). El genoma del virus se puede encontrar con la accesión x57924.

{ 180 }

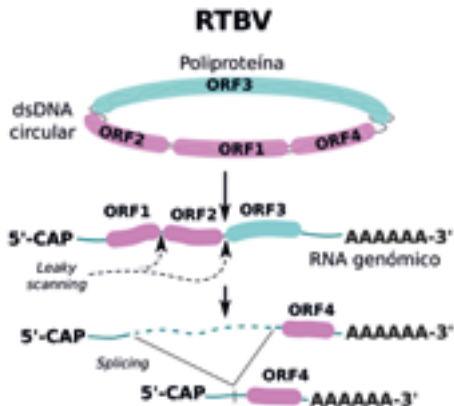


Figura 136. Genoma y estrategias de expresión del *Rice tungro bacilliform virus* (RTBV). El virus presenta genoma de dsDNA de 8 kb con discontinuidades en ambas cadenas. Utiliza las estrategias de expresión de poliproteína, *leaky scanning* y *splicing* de intrones.

Fuente: King et al. 2012



Figura 137. a. Síntomas generales de amarillamientos, enanismos y reducción en la población de plantas de arroz infectadas por *Rice tungro bacilliform virus* (RTBV); b. Detalle de plantas infectadas por RTBV. Se puede observar las clorosis intervenales y el amarillamiento descendente de los brotes de nuevas láminas foliares.

FOTOS: Satendra Kumar Mangrauthia





Virus de -ssRNA⁻ y +/-ssRNA

Familias *Bunyaviridae*, *Rhabdoviridae* y *Ophioviridae*

Géneros *Emaravirus*, *Tenuivirus*, *Varicosavirus*

Familia *Bunyaviridae*

Los virus de esta familia tienen una morfología muy variable, al igual que sus propiedades biológicas, dada la ocurrencia de géneros que afectan animales vertebrados y artrópodos (*Orthobunyavirus*, *Nairovirus* y *Phlebovirus*), solo vertebrados (*Hantavirus*) y plantas (*Tospovirus*). Sin embargo, en general, sus viriones tienen forma esférica o pleomórfica de 80-120 nm de diámetro, con proyecciones de glicoproteínas de 5-10 nm embebidas en una envoltura externa, formada a partir de una bicapa lipídica de origen celular (aparato de Golgi o plasmalema). Por esto los viriones contienen de 20% a 30% de lípido y de 2% a 7% de carbohidratos por peso. Los genomas consisten de tres moléculas de ssRNA negativo o ambisentido, con tamaños de 11 a 19 kb, designados por ello como L (*large*), M (*medium*) y S (*small*); los tospovirus son de 16,6 kb (L = 8.897 nt, M = 4.821 nt y S = 2.916 nt) (figura 138).

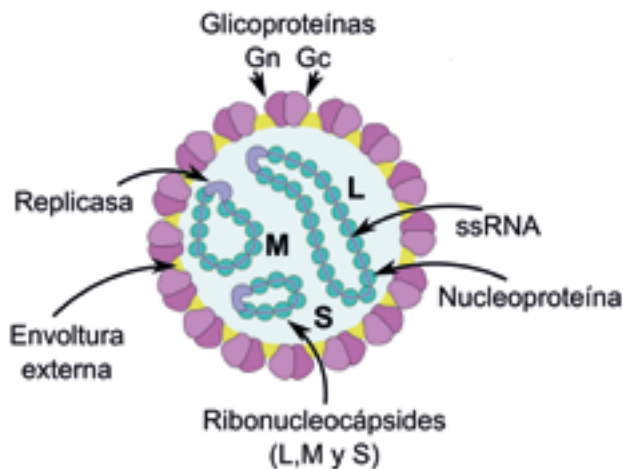
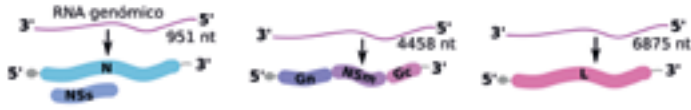


Figura 138. Estructura de viriones de los tospovirus de plantas. Este virus tiene tres segmentos (S, M y L) de +/-ssRNA como genoma, envoltura externa, replicasa preformada y morfología esférica con diámetros de 80 a 120 nm.

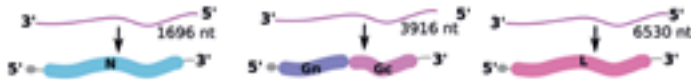
Fuente: autores

Los nucleótidos terminales de cada segmento del genoma presentan un apareamiento de bases que da origen a RNA circulares no covalentemente cerrados. Estas secuencias son conservadas entre los virus de cada género, pero no entre miembros de diferentes géneros. Los mRNA no son poliadenilados en el extremo 3', pero sí tienen una caperuza metilada en 5'. Todos los virus de esta familia codifican para cuatro proteínas estructurales, dos glicoproteínas (Gn y Gc, codificados por el segmento M), una proteína de nucleocápside (N, codificada por el segmento S) y una rNRP (codificada por el segmento L). Las proteínas no estructurales se expresan a partir de los segmentos S y M (figura 139).

Orthobunyavirus (BUNV)



Hantavirus (HTNV)



Tospovirus (TSWV)

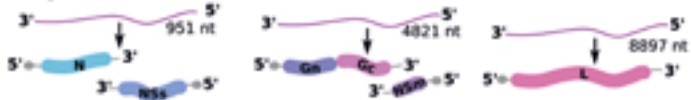


Figura 139. Organización del genoma y estrategias de expresión de proteínas en diferentes bunyavirus, incluyendo los tospovirus que infectan hospedantes vegetales y que presentan dos segmentos genómicos (s y m) ambisentidos. Basado en: ViralZone c2011

La replicación de los bunyavirus ocurre en el citoplasma de las células hospedantes y comienza con la unión de las proteínas de la envoltura externa con receptores del hospedante; procede su ingreso por endocitosis y fusión de membranas, desensamblaje y transcripción primaria, es decir, la síntesis de mRNA complementario al molde del genoma, con el uso de la replicasa asociada al virión. Luego ocurre la traducción de los mRNA de los segmentos

L y S por ribosomas libres y del segmento M por ribosomas asociados al RE. De esta forma sucede la replicación del genoma y, finalmente, la transcripción secundaria y la morfogénesis, incluyendo la acumulación de Gn y Gc en las membranas, por lo general del aparato de Golgi o RE (en los tospovirus), para continuar con la fusión de las vesículas citoplasmáticas con el plasmalema (excepto en los tospovirus) y a la liberación de los viriones maduros (figura 140).

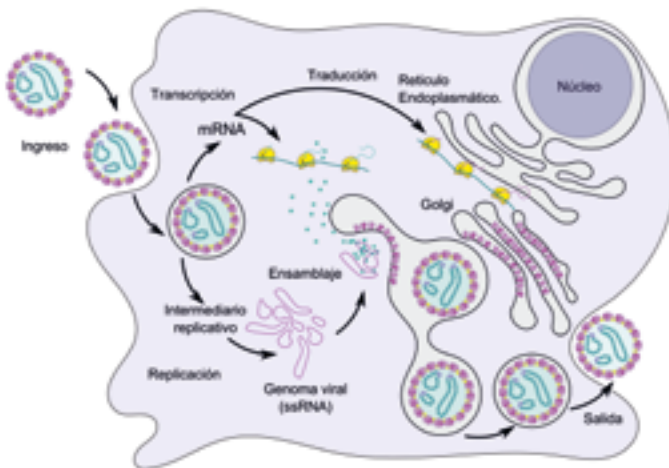


Figura 140. Ciclo de infección general de los bunyavirus. Se puede observar el ensamblaje de las partículas en proximidades del aparato de Golgi y su salida de la célula por exocitosis (no en tejidos vegetales). Basado en: ViralZone c2011; King et al. 2012

Los virus de los géneros que afectan animales se pueden replicar tanto en sus hospedantes vertebrados como en sus vectores artrópodos (generalmente mosquitos, garrapatas y dípteros flebotominos también conocidos como jejenes), y no se ha encontrado hasta ahora ningún vector artrópodo para los hantavirus. Por su parte, los tospovirus son transmitidos por trips, en cuyo cuerpo aparentemente se pueden replicar también.

Género *Tospovirus*

Desde la identificación del *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) en 1930, el género *Tospovirus* solo consideraba esa especie, situación que cambió en 1991 con la descripción del *Impatiens necrotic spot virus* (INSV). Para el IX Reporte del ICTV, el número de virus comprendido había ascendido a ocho especies aprobadas y a quince propuestas.

Los virus de este género comparten muchas de las características de los demás miembros de la familia *Bunyaviridae*. Es decir, presentan viriones con envoltura externa que rodean nucleocápsides que contienen un genoma multipartita de tres segmentos, con extremos conservados y complementarios (UCUCGUUA... en 3' y AGAGCAAU... en el 5') que resultan en configuraciones con forma de *pan-handle* y genes con funciones similares a los demás géneros, aunque los segmentos S y M codifican para dos genes con polaridad ambisentido.

Los viriones de los tospovirus tienen morfología cuasiesférica de 80-120 nm de diámetro, con dos glicoproteínas (GN y GC) embebidas en la envoltura externa (figura 138). La nucleocápside es pseudocircular y contiene varias copias de la replicasa viral. El RNA L tiene 8,9 kb y codifica para la RdRp a partir de la cadena complementaria (vc) al genoma del virión (vs). El RNA M tiene 4,8 kb y codifica en el sentido vs para la proteína no estructural NSM involucrada en el movimiento del virus a través de los plasmodesmos y para GN y GC en el sentido vc.

Las glicoproteínas se forman a partir de sgrNA y son responsables de la interacción con proteínas de sus vectores (trips). El RNA S tiene 2,9 kb y codifica para la proteína no estructural NSS en orientación vs, cuya función propuesta es la de suprimir la actividad de silenciamiento de RNA y para la proteína de la nucleocápside (N) en orientación vc a partir de un sgrNA (figura 141).

Los segmentos M y S tienen regiones intergénicas (IGR) con longitudes variables y ricas en A-U, que se cree que participan en la regulación del inicio y finalización de la transcripción. La replicación de los tospovirus ocurre en el citoplasma de las células, tanto de las plantas como de los vectores, y el ensamblaje que origina los viriones maduros se presenta en las membranas del aparato de Golgi.

{ 185 }

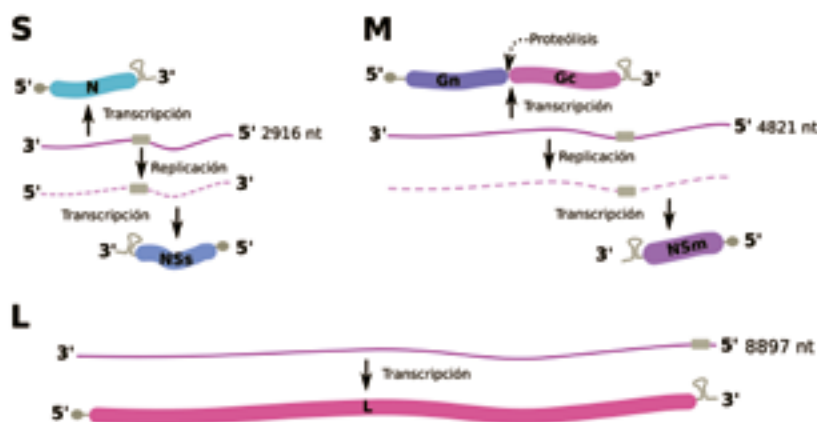


Figura 141. Organización del genoma y estrategias de expresión de proteínas del *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) que incluyen sgrNA. Basado en: ViralZone c2011; King et al. 2012

El tsrwv es sin duda la especie mejor estudiada de este género y la que representa mayor importancia económica mundial, dados sus amplios rangos de distribución geográfica y de hospedantes, con más de 800 especies vegetales de 80 familias botánicas tanto mono como dicotiledóneas, tales como tomate, papa, lechuga, pimiento, papaya, crisantemo, dalias y maní, entre otras.

Los demás miembros del género presentan rangos de hospedantes más estrechos, como por ejemplo el insv, que está limitado a plantas ornamentales cultivadas, sobre todo, en invernadero. Aunque los tospovirus inducen una gran variedad de síntomas en sus hospedantes, es frecuente observar clorosis, necrosis, anillos o grabados, moteados, enanismos, deformación de tejidos (como frutos y flores) (figura 142) y también coloraciones plateadas en las hojas. En lo que atañe a la citología, pueden formar inclusiones de viroplasma consistentes de agregados de proteínas nss o n, que pueden ser planas (por ejemplo, tsrwv) o paracristalinas (por ejemplo, insv).



Figura 142. Síntomas de deformación de frutos por infección del *Tomato spotted wilt virus* (tsrwv) en pimiento.

Los tospovirus se transmiten de forma mecánica, persistente y propagativa por trips (*Thysanoptera: Thripidae*); se reportan al menos 13 especies de los géneros *Frankliniella* (como *F. occidentalis*), *Trips* (por ejemplo, *T. palmi* y *T. tabaci*), *Scitothrips* y *Ceratothripoides* como vectores. La adquisición ocurre solo por larvas, ya que en los adultos se forma una barrera en el intestino que impide la circulación del virus. Sin embargo, una vez adquirido el virus en estados larvales, los adultos son los principales estadios de transmisión. Estos virus no se propagan por semilla sexual o polen, pero sí por semilla asexual. Además, diferentes plantas arvenses pueden servir de

reservorios del tsrwv (como *Polygonum pensylvanicum*, *Chenopodium album* y *Ambrosia* spp., entre otras).

Las especies dentro del género se definen con base en la especificidad del vector, rango de hospedantes, relaciones serológicas de la proteína N (nucleocápside) y en su secuencia de aminoácidos, que debe ser menor de 90%. El genoma del tsrwv se puede encontrar con las accesiones D10066 (L), S48091 (M) y D00645 (S).

Género *Tenuivirus*

Hasta el IX Reporte del ICTV, este género no se había asignado a una familia. Su especie tipo es *Rice stripe virus* (RSV). Sus viriones consisten de partículas filamentosas (también referidas como ribonucleoproteínas – RNP) con nucleocápsides de 3-10 nm de diámetro y longitudes proporcionales a los tamaños de los RNA que contienen. Dichos filamentos pueden tomar configuraciones espirales, ramificadas o circulares y carecen de envoltura externa (figura 143).

Sus genomas consisten de cuatro o más segmentos de ssRNA con polaridades negativas o ambisentido y tamaños de 9 kb (RNA-1), 3,3-3,6 kb (RNA-2), 2,2-2,5 kb (RNA-3) y 1,9-2,2 kb (RNA-4); el tamaño total del genoma del RSV es de 17 kb. El *Maize stripe virus* (MSV) y *Echinochloa hoja blanca virus* (EHBV) contienen un quinto RNA de 1,3 kb, mientras que *Rice grassy stunt virus* (RGSV) contiene seis segmentos. Al interior de las nucleocápsides se presentan copias preformadas de RdRP (figura 144).



Figura 143. Morfología de los tenuivirus. Sus viriones contienen de cuatro a seis nucleocápsides sin envoltura externa y de 3-10 nm de diámetro.

Fuente: autores

Los extremos 3' y 5' de cada segmento son complementarios en 20 nt, lo que da origen a RNP cerradas. Algunos segmentos codifican para dos proteínas de modo ambisentido; la proteína de la nucleocápside por lo general la codifica el RNA-3 en orientación vc, y la p3 se codifica con polaridad vs y se asocia a la supresión del silenciamiento de RNA del hospedante.

El RNA-4 codifica para la proteína no estructural NCP, que se caracteriza por su acumulación en las células infectadas, lo que forma grandes inclusiones citoplasmáticas (figura 145). Sin embargo, en algunos casos, como el RNA-1 de RSV y RNA-5 de MSPV, los segmentos genómicos presentan polaridad negativa y codifican para rdrp (pC1) y para pC5, respectivamente.

La transcripción de los mRNA ocurre por el proceso de *cap-snatching*. Por esto, los extremos 5' de los RNA contienen de 10 a 17 nt de origen no viral que son cubiertos con caperuzas y derivados de mRNA de la célula hospedante al ser utilizados por la rdrp como cebadores para la síntesis del mRNA viral.

Los tenuivirus afectan solo plantas gramíneas y principalmente de la familia *Poaceae*; inducen síntomas del tipo rayados o bandeados cloróticos en las láminas foliares, además de enanismos y, en casos extremos, necrosis de tejidos (figura 146). Se transmiten de forma muy específica por saltapuntas (*Delphacidae*) de manera circulatoria, propagativa y, en algunas ocasiones, transovárica (por ejemplo, *Laodelphax striatellus* transmite RSV, *Peregrinus maidis* transmite MSPV y *Tagosodes orizicolus* transmite RHBV) (figura 146). Los virus los puede adquirir el vector en tiempos muy cortos (15 segundos), aunque se ha encontrado que mientras más prolongada es la adquisición, más eficiente es la transmisión. Luego sobreviene un período de latencia de 4 a 30 días, después del cual el insecto permanece virulífero. En general, las ninfas son más eficientes en la transmisión que los adultos, y se postula que la multiplicación de los virus en los vectores puede tener efectos deletéreos para los insectos.

La transmisión mecánica de los virus es difícil, aunque se ha logrado en forma experimental.

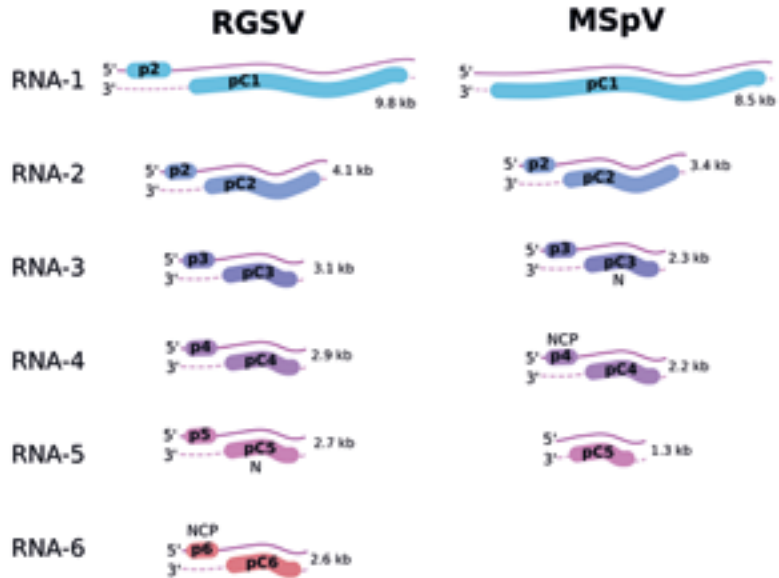


Figura 144. Características de los genomas segmentados y ambisentidos del Rice grassy stunt virus (RGSV) y Maize stripe virus (MSPV).
Basado en: King et al. 2012

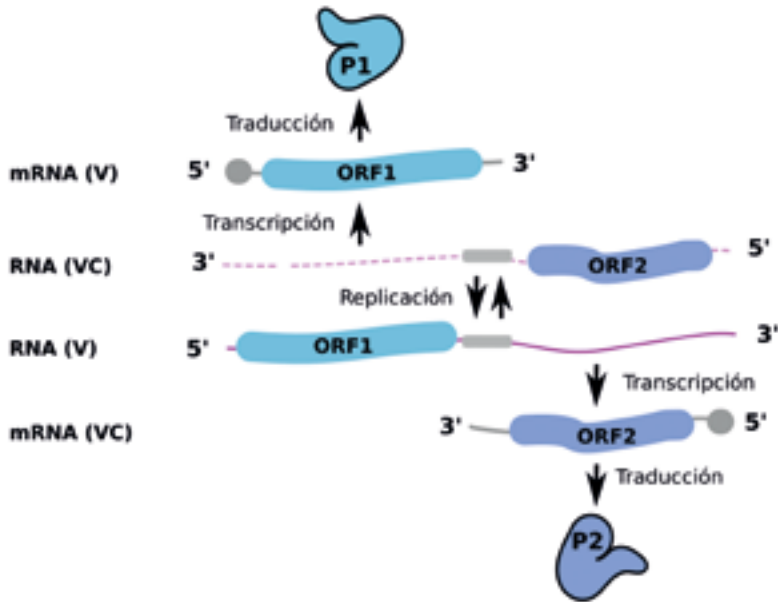


Figura 145. Estructura del genoma de tenuivirus y estrategias de expresión ambisentido.
Fuente: autores

{ 188 }



FOTOS: Jairo Castaño Zapata

Figura 146. a. Síntomas de rayados y clorosis causados por *Rice hoja blanca virus* (RHBV); b. Adultos y ninfas de *Tagosodes orizicolus*, vector del RHBV.

Los criterios para demarcar las especies dentro del género *Tenuivirus* incluyen la especificidad del vector, el rango de hospedantes, los tamaños y número de segmentos genómicos, niveles de identidad de secuencias de aminoácidos <85% en diferentes proteínas y <60% en la secuencia de nucleótidos de las regiones intergénicas. Hasta el IX Reporte de ICTV se habían aceptado seis especies y propuesto otras seis. Las especies de mayor importancia económica para cultivos tropicales de este género son el *Maize stripe virus* (MSPV), *Rice hoja blanca virus* (RHBV) y *Rice stripe virus* (RSV), cuyos genomas se pueden encontrar con las accesiones U53224, M57426, L13438 y L13446 para MSPV; AF009569, L54073, L07940 y AF004657 para rhbv y D31879, D13176, X53563 y D10979 para RSV.

de las células hospedantes y responsables de la composición del 15% al 25% de lípidos en el virión. Presentan proyecciones (peplómeros) de 5-10 nm, consistentes de trímeros de la glicoproteína de origen viral G.

En su interior se presenta la nucleocápside de 30-70 nm de diámetro con simetría helicoidal y consistente del -ssRNA genómico (11- 15 kb), fuertemente unido a las nucleoproteínas N, la rDRP (L) y a una fosfoproteína (P), lo que constituye un complejo de RNP. Este complejo se presenta superenrollado al interior del virión y embebido en proteínas de matriz (M) (figura 147). En el citoplasma de las células hospedantes, el complejo de RNP se presenta relajado con forma filamentososa con 700 nm de longitud por 20 nm de diámetro.

Familia *Rhabdoviridae*

Esta familia comprende seis géneros: *Vesiculovirus*, *Lyssavirus*, *Ephemerovirus*, *Novirhabdovirus*, *Cytorhabdovirus* y *Nucleorhabdovirus*; los dos últimos corresponden a virus de plantas, mientras que los miembros de los otros géneros afectan mamíferos, aves, peces o diferentes invertebrados.

Los viriones de los rhabdovirus tienen forma de bala con dimensiones de 100-430 nm de longitud por 45-100 nm de diámetro, aunque en los de plantas por lo general las partículas tienen formas más bacilares. Poseen envoltura externa originada en la membrana

El RNA genómico tiene en su extremo 5' un trifosfato, mientras que el 3' se presenta libre (grupo hidróxilo) y contienen secuencias complementarias con señales de inicio de transcripción y replicación. Los genomas de estos virus codifican para cinco proteínas estructurales organizadas en igual número de ORF en sentido del virión (vs) y en el orden 3'-N-P-M-G-L5'; se transcriben progresivamente gracias a la presencia de señales de inicio y finalización de cerca de 10 nt en las regiones flanqueantes de cada cistron.

En el caso de los rhabdovirus de plantas se presentan además una o dos proteínas no estructurales responsables del movimiento entre células de los virus. Los

{ 189 }

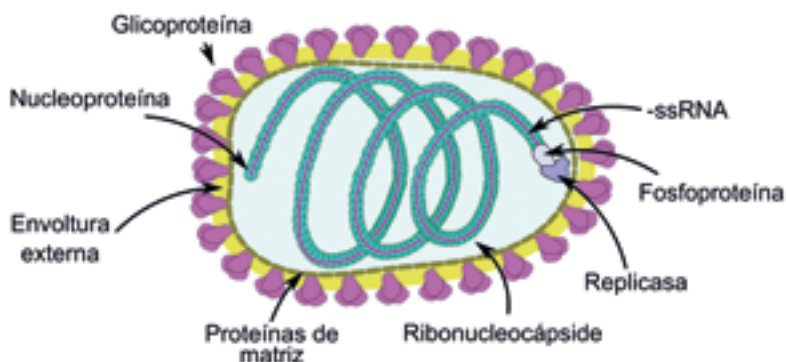


Figura 147. Morfología bacilar de los viriones de rhabdovirus de plantas, con tamaños de 180 nm de largo por 75 nm de ancho. Se puede observar la ribonucleocápside filamentososa al interior de la partícula y la presencia de replicasa y fosfoproteína preformada.

Fuente: autores

mRNA presentan caperuza en el extremo 5' y poli-A en el 3' (figura 148). También se transcribe un pequeño RNA sin caperuza ni poli-A que no se traduce y cuya secuencia se ubica antes del primer ORF (N) en el extremo 3' del genoma, denominado RNA líder.

Excepto por los rhabdovirus de plantas, que penetran en las células de sus hospedantes por medios mecánicos o por vectores artrópodos, los demás rhabdovirus

En los vesiculovirus, lyssavirus, ephemerovirus y novirhabdovirus, el proceso de ensamblaje de viriones comienza con la organización en el citoplasma de las RNP y la consiguiente gemación en el plasmalema, previa integración en este por vía vesicular de las proteínas virales G. Por su parte, los cytorhabdovirus obtienen su envoltura externa de membranas asociadas a viroplasmos en el citoplasma y los nucleorhabdovirus de la membrana nuclear interna.

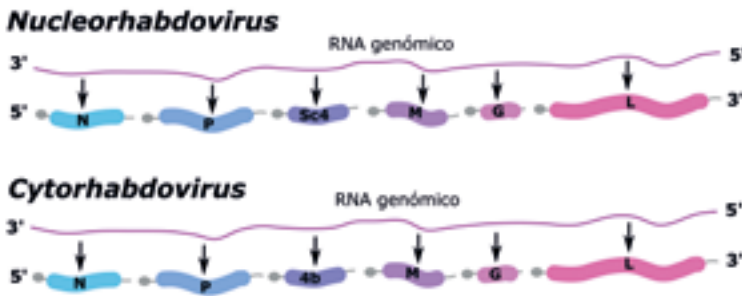


Figura 148. Estructura genómica de nucleorhabdovirus y cytorhabdovirus que codifica para seis ORF y presenta -ssRNA de 11 a 15 kb.

Basado en: King et al. 2012

{ 190 }

ingresan a sus células por endocitosis mediada por el reconocimiento de receptores celulares de las proteínas G embebidas en la envoltura externa. Una vez en el interior del citoplasma, se libera el complejo RNP por efecto del bajo pH dentro de los endosomas (para virus de animales) y el RNA es transcrito varias veces (transcripción primaria) por la RDRP contenida en el virión. De esta forma comienza la traducción en polisomas citoplasmáticos (con excepción de la proteína G que se traduce en ribosomas asociados a membranas del retículo endoplasmático).

Posteriormente sucede la replicación del genoma a partir de intermediarios de +ssRNA que sirven de molde para la síntesis de las copias completas del -ssRNA. Este proceso, excepto en los nucleorhabdovirus, ocurre en el citoplasma de las células hospedantes. Luego de la replicación, por lo común se presenta una segunda ronda de transcripciones (transcripción secundaria), traducciones y, para terminar, un nuevo ciclo de replicación.

Cytorhabdovirus

La especie tipo del género es *Lettuce necrotic yellows virus* (LNYV). Los cytorhabdovirus se caracterizan por su replicación en viroplasmos formados en el citoplasma de las células vegetales hospedantes. Los viriones obtienen su envoltura externa a partir de la gemación de las membranas del retículo endoplasmático. Son baciliformes de 60-75 nm en diámetro por 200-350 nm de longitud.

Por su parte, los genomas de -ssRNA tienen de 12,8 a 14,5 kb con entre seis y diez ORF. Para el caso del LNYV, el genoma presenta una secuencia líder de 84 nt y los siguientes genes 3'-N-P-4B-M-G-L-5', en donde N representa la nucleoproteína, P la fosfoproteína, M la proteína de matriz, G la glicoproteína y L la RDRP, mientras que 4b es una proteína de movimiento. La región no codificante en el extremo 5' tiene una secuencia de 187 nt complementarios con la secuencia 3' líder. Para

el caso del *Northern cereal mosaic virus* (NCMV), el genoma tiene 13,2 kb con una organización similar a la indicada para LNYV, excepto por la presencia de tres ORF pequeños de función desconocida entre P y M y uno adicional entre G y L.

Los cytorhabdovirus tienen rangos de hospedantes estrechos, generalmente en *Gramineae*; es frecuente que los síntomas que provocan sean suaves y consistan de amarillamientos y clorosis (figura 149). Estos virus no se transmiten de manera mecánica, aunque hay algunas excepciones (como LNYV); sí lo hacen por saltahojas, saltaplantas y áfidos de forma circulatoria, propagativa y para el caso de *Barley yellow striate mosaic virus* (BYSMV), transovárica.

Las especies de este género se diferencian por el rango de hospedantes y por la especificidad del vector. Dado el bajo número de secuencias disponibles para sus miembros, no se ha definido un nivel de identidad en las secuencias del genoma o de un gen en particular para la delimitación de especies.

El IX Reporte del ICTV registra para el género *Cytorhabdovirus* once especies aprobadas y tres propuestas. Los virus correspondientes típicamente afectan plantas en las regiones subtropicales y templadas. Desde el punto de vista económico, las especies más

importantes son LNYV, que afecta a la lechuga en Australia (accesión AJ867584), y BYSMV (accesión FJ665628), que afecta a los cereales en Europa, África, el Oriente medio y Australia.

Nucleorhabdovirus

Su especie tipo es *Potato yellow dwarf virus* (PYDV). Se caracterizan por la replicación en el núcleo de las células hospedantes que, como resultado de la infección, se presentan ensanchados y con grandes inclusiones nucleares. Sus viriones son baciliformes de 45-100 nm de diámetro por 130-300 nm de longitud, con envoltura externa, que se ensambla en la membrana interna del núcleo y se acumula en el espacio perinuclear. El genoma de -ssRNA tiene entre 12 y 14 kb con seis a siete ORF, que se transcriben por mRNA monocistrónicos.

Para el PYDV, el genoma tiene 12,9 kb y siete ORF en el orden 3'-N-X-P-Y-M-G-L-5', donde X codifica para una proteína de movimiento, mientras que Y no tiene función conocida hasta ahora; los demás ORF codifican para las proteínas ya mencionadas. La secuencia líder en 3' tiene 149 nt, mientras que en el extremo 5' se presenta una secuencia tráiler de 97 nt complementaria con la líder. Por su parte, el genoma del *Maize fine streak virus* (MFSV) tiene

{ 191 }



Figura 149. Síntomas causados por cytorhabdovirus en plantas de trigo. Se pueden observar los estriados cloróticos y la deformación de espigas lo que termina por producir reducciones considerables en el rendimiento de los cultivos.

13,8 kb y presenta un orden similar al PYDV, aunque con un ORF de función desconocida entre P y M.

La mayoría de nucleorhabdovirus tienen rangos de hospedantes muy restringidos y, por lo general, de una familia botánica, esto con excepción de PYDV que es altamente polífago. En esencia, se distribuyen en el subtrópico y en las regiones templadas. Por lo común inducen síntomas que incluyen amarillamientos, aclaramiento de venas, rayados, mosaicos, moteados, arrugamiento de hojas y necrosis de tejidos y enanismos (figura 150). Tal como los cytorhabdovirus, no se transmiten de modo mecánico con facilidad, pero sí por saltahojas y áfidos de manera circulativa y propagativa. En general, se desconoce la transmisión de estos virus por semilla sexual o por polen.

La demarcación de especies en el género *Nucleorhabdovirus* ocurre principalmente por el rango de hospedantes y por la especificidad del vector; no existe hasta ahora un consenso sobre los niveles de identidad de secuencias de nucleótidos o aminoácidos en el genoma para apoyar su definición.

Hasta el IX Reporte de ICTV, el género presentaba nueve especies aprobadas y cuatro propuestas. Las más relevantes desde el punto de vista económico son PYDV (GU734660), sobre papa en Norteamérica; *Eggplant mottle dwarf virus* (EMDV) (accesión AM922319), sobre diferentes vegetales (tomate, berenjena, pepino) en Europa mediterránea, y *Maize mosaic virus* (MMV), en Hawái, el Caribe y Venezuela.

{ 192 }



FOTOS: Francia Varón

Figura 150. Síntomas de rayados y amarillamientos causados por nucleorhabdovirus serológicamente relacionado con *Maize mosaic virus* (MMV) en cultivos de maíz.





Virus de dsRNA

Familias *Edornaviridae*, *Partitiviridae* y *Reoviridae*

Familia *Reoviridae*

Esta familia de virus comprende dos subfamilias: *Spinareovirinae*, caracterizada porque sus miembros presentan grandes espinas en los doce vértices de las partículas, y *Sedoreovirinae*, con virus que no presentan estas grandes proyecciones en la cápside. La primera subfamilia comprende nueve géneros (*Orthoreovirus*, *Aquareovirus*, *Oryzavirus*, *Fijivirus*, *Mycoreovirus*, *Cypovirus*, *Idnoreovirus*, *Dinovernavirus* y *Coltivirus*) y la segunda, seis (*Orbivirus*, *Rotavirus*, *Seadornavirus*, *Phytoreovirus*, *Cardoreovirus* y *Mimoreovirus*).

Los reovirus tienen un amplio rango de propiedades biológicas, pues algunos se replican solo en ciertas especies de vertebrados (*Orthoreovirus* y *Rotavirus*), mientras que otros lo hacen tanto en sus hospedantes vertebrados como en sus vectores artrópodos (como *Orbivirus*, *Coltivirus* y *Seadornavirus*). Los miembros de los géneros *Oryzavirus*, *Fijivirus* y *Phytoreovirus* infectan plantas y se pueden también replicar en sus vectores saltahojas. Casi siempre, los tejidos que infectan en las plantas son muy específicos y puede inducir enfermedades de gran impacto económico como la de Fiyi (*Fiji disease virus* - FDV) en caña de azúcar, el enanismo rasgado del arroz (*Rice ragged stunt virus* - RRSV) y el enanismo del arroz (*Rice dwarf virus* - RDV).

Morfológicamente, los virus de esta familia se caracterizan por presentar viriones isométricos de 60-80 nm de diámetro, con las proteínas de la cápside organizadas como una, dos o tres capas concéntricas, que pueden dar una apariencia esférica a los virus. En algunos casos se pueden presentar envolturas lipídicas durante el proceso de liberación, aunque los viriones maduros carecen de envoltura externa. Los genomas consisten de nueve a doce moléculas lineares de dsRNA y presentan diferentes proteínas preformadas, que incluyen la RdRp, nucleótido P-hidrolasa, guanililtransferasa, transmetilasas, helicasa y pirofosfatasa (figura 151).

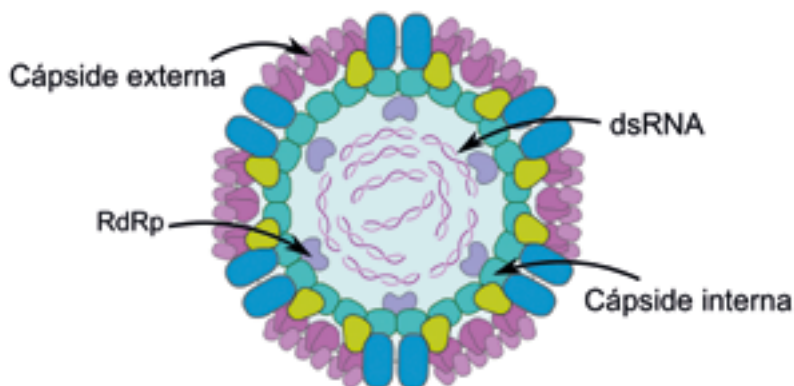


Figura 151. Morfología de los viriones de fijivirus. Se puede observar la estructura de doble cápside de 65-70 nm de diámetro, así como la división del genoma de dsRNA en múltiples segmentos y la RdRp preformada en el interior de la partícula.

Fuente: autores

Los diferentes segmentos de dsRNA son principalmente monocistrónicos, aunque algunos pueden tener un segundo ORF. Las proteínas son codificadas por una de las cadenas del dúplex, y es frecuente la transcripción de grandes cantidades de mRNA en viroplasmos o en cuerpos de inclusión viral (VIB) presentes en el citoplasma de las células infectadas.

A pesar de que los mecanismos de ensamblaje del genoma no se conocen con detalle para este grupo de virus, llama la atención el hecho de que los múltiples fragmentos de dsRNA se empaqueten en cantidades equimolares dentro de los viriones, lo que sugiere la presencia de señales de reconocimiento altamente específicas en los RNA virales. Esta situación ocurre en los reovirus, en los que se presentan secuencias terminales conservadas en ambos extremos 5' y 3' e, incluso, hay complementariedad entre dichos extremos, lo que forma estructuras secundarias complejas.

{ 196 } Los géneros en la familia *Reoviridae* se definen por el número de segmentos de dsRNA que componen el genoma, aunque con algunas excepciones (por ejemplo, *Mycoreovirus* tiene 11 y 12 dsRNA). También son criterios importantes el hospedante y el tipo vector de los virus, así como las características de la cápside (como número de capas, presencia o no de espinas, etc.). Para terminar, las divergencias en la secuencia de aminoácidos entre los ORF que codifican para la RdRp son un factor clave para la demarcación de los miembros de géneros diferentes.

Oryzavirus

Su especie tipo es *Rice ragged stunt virus*. Son virus con morfología isométrica y doble cápside con 75-80 nm de diámetro. Sobre su superficie externa se presentan doce espinas del tipo A de 10-12 nm de ancho y 8 nm de longitud, unidas a los extremos de doce espinas tipo B localizadas en los ejes de simetría de la cápside interna (57-65 nm) y con tamaños de 8-10 nm de longitud x 23-26 nm de ancho. En su interior los viriones tienen una RdRp preformada y 10 segmentos de dsRNA lineal, que varían de 1,1 a 3,9 kbp, para un genoma total de cerca de 26 kbp.

En los extremos se presentan secuencias conservadas del tipo 5'GAUAAA...(G)GUGC 3'. El segmento 1 (S1) codifica para una proteína de 137 kDa correspondiente a la espina B; S2 lo hace para la proteína de cápside interna de 133 kDa; S3 codifica para otra proteína de cápside interna de 130 kDa; S4 codifica para la RdRp de 141 kDa y para una proteína de 36,9 kDa de función desconocida; S5 codifica para la enzima guaniltransferasa involucrada en la síntesis de la caperuza de los RNA; S6 y S7 codifican para proteínas no estructurales (65,6 kDa y 68 kDa) de función desconocida; S8 codifica para una poliproteína procesada para dar origen a las proteínas P8a y P8b con funciones de espinas y cápside principal, respectivamente. Por último, los segmentos S9 y S10 codifican para una proteína de 38 kDa involucrada en la transmisión de los virus por vector, y S10 para una proteína no estructural (figura 152).

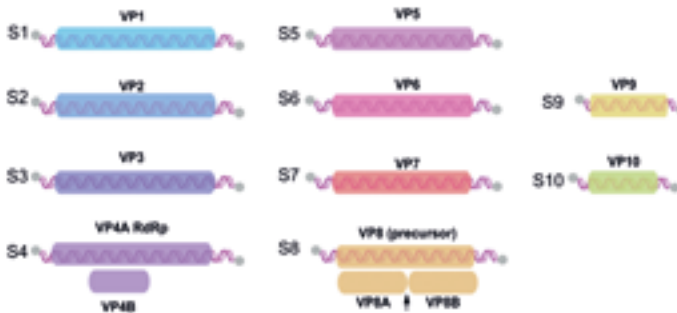


Figura 152. Organización genómica de oryzavirus que contiene 10 segmentos de dsRNA y codifica para 12 proteínas. Basado en: King et al. 2012

Los oryzavirus solo han sido aislados en el subcontinente indio y sudeste asiático con dos especies que infectan monocotiledóneas de la familia *Gramineae* y es el arroz el hospedante de mayor importancia económica. Se replican en viroplasma fibrilares dentro del citoplasma de las células hospedantes del floema o en sus tejidos acompañantes —que sufren hipertrofia que da origen a agallas foliares— o pueden hacerlo en las glándulas salivares, el intestino e, incluso, el cerebro de los insectos vectores. Estos últimos son delfácidos (como RRSV transmitido por *Nilaparvata lugens* y ERSTV por *Sogatella longifurcifera*) que realizan la transmisión de forma persistente, con períodos de adquisición de 3 horas, latencia de 9 días e inoculación de al menos 1 hora. Las ninfas son más eficientes en la transmisión viral que los adultos, pero todas las formas del insecto pueden ser virulíferas. No se han encontrado indicios de transmisión mecánica en estos virus.

Los principales criterios para la demarcación de especies dentro de este género corresponden a las características del genoma (número de segmentos y organización), vectores y rango de hospedantes. Las únicas especies aceptadas por el IX Reporte del ICTV son *Echinochloa ragged stunt virus* (ERSV) y *Rice ragged stunt virus* (RRSV), que pueden causar pérdidas en el cultivo de arroz del 10-20%; incluso pueden llegar al 100% en casos críticos. El genoma de un representante de esta especie se puede encontrar con el número de accesoión PRJNA14794.

Fijivirus

Los fijivirus tienen viriones con doble cápside, con estructura icosaédrica, aunque con apariencia esférica, con tamaños de 65 a 70 nm de diámetro. Además, presentan doce espinas tipo A (11 nm de longitud) en los vértices del icosaedro y doce espinas tipo B (8 nm de longitud x 12 nm ancho) en la cápside interna.

Sus genomas tienen diez segmentos de dsRNA que se enumeran en orden de movilidad electroforética en PAGE, cada uno de los cuales tiene entre 1,8 y 4,5 kpb, y en total suman cerca de 29 kpb. Como característica, presentan bajos contenidos de G+C (34 a 36%). Dentro del género solo la secuencia terminal 3' se conserva (... GUC-3') (por ejemplo, FDV: CAGCUNNNNGUC3', MRDV: UGUC3', MRCV: CAGCUNNNNGUC3'). Anexo a esas secuencias, se presentan repeticiones invertidas.

La mayoría de segmentos de dsRNA son monocistrónicos, aunque algunos poseen dos ORF; hasta ahora no se ha demostrado *in vivo* la expresión del segundo ORF.

{ 197 }

A continuación se presentan los productos de los segmentos genómicos de FDV: S1: 170,6 kDa, RdRp; S2: 137 kDa Core mayor; S3: 135,5 kDa: posiblemente espina B; S4: 133,2 kDa, desconocida; S5: 115,3 kDa, desconocida; S6: 96,8 kDa, desconocida; S7: 41,7 kDa y 36,7, posible proteína tubular no estructural y proteína desconocida, respectivamente; S8: 68,9 kDa, posible NTP-binding; S9: 38,6 y 23,8, proteína asociada

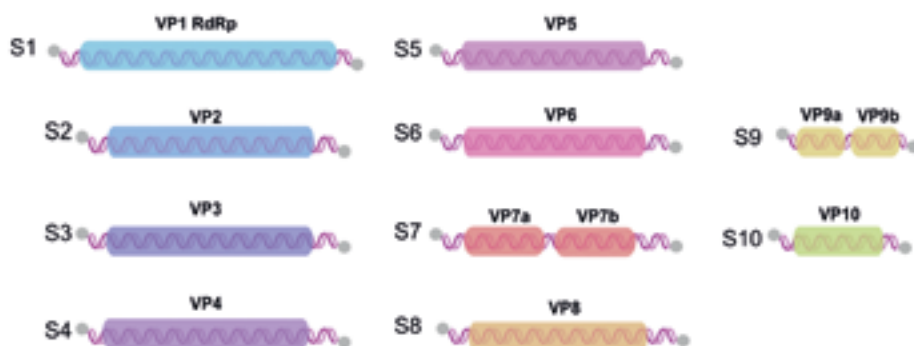


Figura 153. Organización genómica de fijivirus que contiene diez segmentos de dsRNA y codifica para 12 proteínas. Basado en: King et al. 2012

a viroplasma y no estructural, respectivamente; SIO: 63 kDa, cápside mayor externa (figura 153). Para el caso del *Nilaparvata lugens reovirus* (NLRV), no se presenta la contraparte del ORF2 del S7 de FDV, por lo que se cree que dicho cambio puede reflejar la incapacidad de este virus de replicarse en células vegetales, pero sí en el delfácido *Nilaparvata lugens*.

Todos los fijivirus inducen hipertrofia del floema y sus células acompañantes, lo que se manifiesta en síntomas como hinchazón de venas y agallas del tipo enaciones o tumores. Además, es común que las plantas infectadas presenten enanismo, atrofia o aborto floral y brotación lateral (figura 154). Virus como el *Maize rough dwarf virus* (MRDV) inducen destrucción longitudinal de raíces.

Los fijivirus son transmitidos por delfácidos de forma persistente propagativa; son algunos de sus vectores insectos de los géneros *Perkinsiella*, *Laodelphax*, *Toya*, *Sogatella*, *Javesella*, *Delphacodes*, entre otros. Estos vectores requieren períodos de incubación de cerca de dos semanas, tiempo después del cual el insecto permanece virulífero de por vida. La transmisión mecánica es difícil de lograr (figura 154).

{ 198 }

Los fijivirus son de amplia distribución mundial, aunque su registro en Norteamérica es limitado. Hasta el momento se han reportado ocho especies

que infectan monocotiledóneas de las familias *Gramineae* y *Liliaceae*, y algunos hospedantes de importancia económica son la avena, el arroz, la caña de azúcar, el maíz y el ajo. Además se ha propuesto al Southern rice black streaked dwarf virus (SRBSDV) como la novena especie en el IX Reporte del ICTV.

Los principales criterios de demarcación de las especies en este género incluyen niveles de identidad de nt <55 % para el ORF que codifica para la cápside mayor, especificidad de reacciones serológicas, rango de hospedantes y especies de vectores. El virus que mayor importancia económica presenta es el FDV (accesión PRJNA15473), pues puede causar pérdidas hasta del 90 % en variedades susceptibles de caña de azúcar, mientras que el *Mal de Río Cuarto* (MRCV) (accesión PRJNA18539) causa la enfermedad viral más limitante del maíz en Argentina.

Phytoreovirus

Este género de virus contiene tres especies caracterizadas por presentar doce segmentos de dsRNA como genoma y diferentes morfologías de viriones: *Rice dwarf virus* (RDV) consiste de partículas isométricas con dos cápsides y cerca de 70 nm de diámetro con doce espinas externas, mientras que *Wound tumor virus* (WTV) tiene tres capas de cápsides (capa amorfa, cápside interna y core) sin espinas (figura 155).



FOTOS: Guohui Zhou

Figura 154. Síntomas de agallas y rayados foliares causados por la especie propuesta *Southern rice black-streaked dwarf virus* del género *Fijivirus* (SRBSDV) (a), transmitido por el delfácido *Sogatella furcifera* (b).

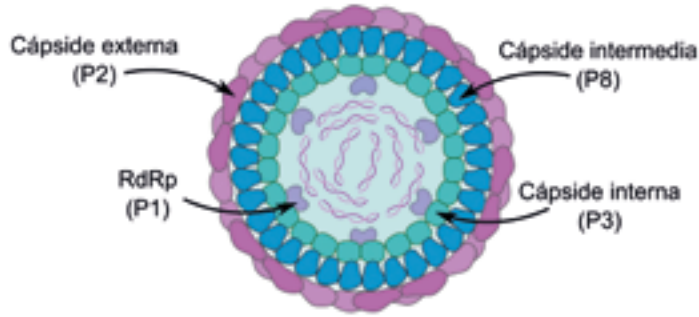


Figura 155. Morfología de los viriones de phytoreovirus. Se puede observar la estructura de triple cápside de 70 nm de diámetro, así como la división del genoma de dsRNA en múltiples segmentos y la rdRp preformada en el interior de la partícula. Fuente: autores

Cada una de las cadenas positivas de los segmentos del genoma presenta las secuencias conservadas: 5' GG(u/c)A---UGAU3' en sus extremos, aunque con algunas excepciones como el s9 del RDV que tiene la secuencia 5' GGUA---CGAU 3'. En forma similar con los otros géneros descritos, dichas secuencias se encuentran anexas a regiones invertidas de 6-14 pares de longitud, aunque estas difieren entre segmentos. Los genomas de los phytoreovirus en total presentan cerca de 25 kpb, con contenidos G+C de 38-48% y tamaños de 1 a 4,5 kpb por segmento.

Cada segmento de dsRNA contiene un solo ORF, con excepción del RDV, en donde el s12 tiene dos ORF. Las proteínas para las que codifica el genoma de RDV son las siguientes: s1: 170 kDa, RdRp; s2: 130 kDa, cápside externa; s3: 110 kDa, proteína principal del core; s4: 83 kDa, proteína no estructural fosforilada; s5: 89 kDa, guanililtransferasa; s6: 56

kDa, proteína no estructural; s7: 58 kDa, proteína de unión con ácidos nucleicos; s8: 43 kDa, proteína principal de cápside externa; s9: 49 kDa, proteína no estructural de función desconocida; s10: 35 kDa, proteína no estructural, posiblemente asociada a silenciamiento de genes; s11: s11a: 23 kDa, proteína no estructural posiblemente de unión a ácidos nucleicos, s11b: 24 kDa, proteína no estructural de función desconocida; s12: 34 kDa (s12opa y s12opb), proteína no estructural de función desconocida (figura 156). { 199 }

Los hospedantes de los phytoreovirus son plantas dicotiledóneas (para WTV) o gramíneas (para RDV y RGDV). El WTV lo transmite el saltahoja *Agalliopsis novella* y presenta un amplio rango de hospedantes; su síntoma principal es la presencia de tumores en las raíces secundarias de las plantas afectadas. RDV y RGDV por el contrario tienen rangos de hospedantes muy restringidos y similares; son

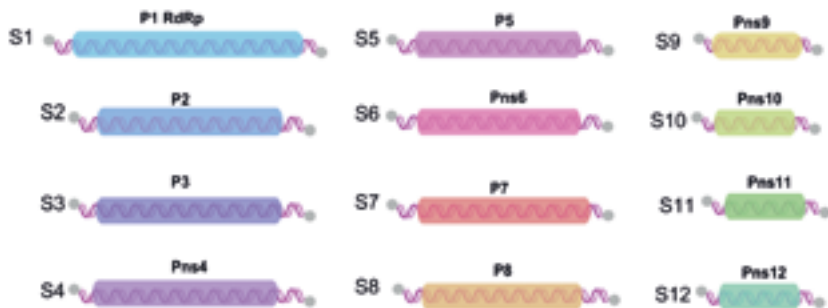


Figura 156. Organización genómica de phytoreovirus que contiene doce segmentos de dsRNA y codifica para doce proteínas. Basado en: King et al. 2012

virus de importancia económica en cultivos de arroz del sudeste asiático y en las islas del Pacífico. RDV es el único reovirus de plantas que no está restringido al floema de las plantas; causa enanismo y el aborto de panículas, pero no produce agallas, enaciones o tumores, como la mayoría de los otros reovirus de vegetales.

La transmisión de estos virus ocurre de forma persistente propagativa y transovárica por cicadélidos de los géneros *Agallia*, *Agalliopsis*, *Nephotettix* y *Recilia*, luego de períodos de adquisición cortos y de latencia de 10-20 días, tiempo después del cual los vectores permanecen virulíferos de por vida.

Los phyto-reovirus no se transmiten mecánicamente ni por semilla sexual.

Las especies dentro del género se delimitan con base en diferencias en niveles de identidad del segmento 8 (<56% para aminoácidos) y en su rango de hospedantes. Solo tres especies han sido aprobadas por el IX Reporte del ICTV: RDV (accesión PRJNA14797), RGDV (accesión PRJNA19149) y WTV (accesiones M24114 a M24117) y dos especies han sido propuestas: *Homolodisca vitripennis* reovirus (HOVRV) y Tobacco leaf enation phyto-reovirus (TLEV), este último es el primer virus del género *Phyto-reovirus* reportado en África.







Virus de +ssRNA

Secoviridae: *Comovirus*, *Fabavirus*, *Nepovirus*, *Cheravirus*, *Sadwavirus*, *Torradovirus*, *Sequivirus*, *Waikavirus*

Tymovirales:

- **Alphaflexiviridae:** *Allexivirus*, *Botrexvirus* (en hongos), *Lolavirus*, *Mandarivirus*, *Potexvirus*, *Sclerodarnavirus* (en hongos)
- **Betaflexiviridae:** *Capillovirus*, *Carlavirus*, *Citrivirus*, *Foveavirus*, *Trichovirus*, *Vitivirus*
- **Tymoviridae:** *Tymovirus*, *Marafivirus*, *Maculavirus*

Bromoviridae: *Alfamovirus*, *Anulavirus*, *Bromovirus*, *Cucumovirus*, *Ilarvirus*, *Oleavirus*

Closteroviridae: *Closterovirus*, *Ampelovirus*, *Crinivirus*

Luteoviridae: *Luteovirus*, *Polerovirus*, *Enamovirus*

Potyviridae: *Potyvirus*, *Ipomovirus*, *Macluravirus*, *Rymovirus*, *Tritimovirus*, *Brambyvirus*, *Bymovirus*

Tombusviridae: *Tombusvirus*, *Dianthovirus*, *Aureusvirus*, *Avenavirus*, *Carmovirus*, *Necrovirus*, *Panicovirus*, *Machlomovirus*

Virgaviridae: *Furovirus*, *Hordeivirus*, *Pecluvirus*, *Pomovirus*, *Tobamovirus*, *Tobravirus*

Benyvirus: Beet necrotic yellow vein virus

Cilevirus: Citrus leprosis virus C

Idaeovirus: Raspberry bushy dwarf virus

Ourmiavirus: Ourmia melon virus

Polemovirus: Poinsettia latent virus

Sobemovirus: Southern bean mosaic virus

Umbravirus: Carrot mottle virus

Familia *Virgaviridae*

Esta familia fue recientemente reconocida (2009) y agrupa virus cuyas partículas que poseen forma de bastón (del latín, *virga*). Incluye los géneros *Furovirus* (5 especies), *Hordeivirus* (4 especies), *Pecluvirus* (2 especies), *Pomovirus* (4 especies), *Tobamovirus* (25 especies) y *Tobravirus* (3 especies), para un total de 43 especies descritas en el IX Reporte del ICTV.

Las características del grupo son, entre otras, la presencia de proteínas de replicación de tipo alfa con dominios conservados de mtr, hel y rdrp, esta última ubicada en la región C-terminal de la proteína (excepto en *Hordeivirus*); genoma de +ssRNA con un motivo de tRNA asociado a su extremo 3'; forma de varillas rígidas de 20 a 25 nm de diámetro, y un canal central en el que se presenta el RNA genómico. Las proteínas de cápside poseen tamaños que oscilan entre 19 y 24 kDa (figura 157).

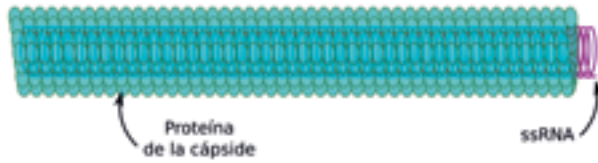


Figura 157. Morfología del virión helicoidal de un miembro de la familia *Virgaviridae*. Dependiendo del virus, se pueden presentar de una a tres partículas con longitudes variables y de 20-25 nm de diámetro.

Fuente: autores

Los virus de esta familia también se caracterizan por poseer proteínas de movimiento célula-célula, que corresponde a la 30 K para *Furovirus*, *Tobamovirus* y *Tobravirus*, y a las codificadas por el triple bloque de genes (TGB - *Triple Gene Block*) en *Hordeivirus*, *Pecluvirus* y *Pomovirus*. Existen algunas diferencias en la organización de los genomas y en el número de RNA que los componen (de uno a tres). Los miembros del género *Hordeivirus* y *Pomovirus* poseen tres RNA genómicos, pero el primer grupo tiene su motivo de rdrp en un RNA diferente de los motivos Hel y Mtr. *Tobamovirus* es el único género cuyos integrantes poseen un solo RNA como genoma.

muchos de los tobamovirus. También hay algunos que se transmiten por hongos y pseudohongos del suelo (PMTV por *S. subterranea*, entre ellos), así como otros por semilla sexual (por ejemplo, *Hordeivirus*).

Los criterios para delimitar los géneros en esta familia corresponden al número de segmentos genómicos, las estrategias de expresión de genes, el tipo de proteínas de movimiento y las formas de transmisión.

Género *Pomovirus*

El género *Pomovirus* deriva su nombre de la especie tipo *Potato mop-top virus* (PMTV). Está conformado por tres especies, además de PMTV: *Beet soil-borne virus* (BSBV), *Beet virus Q* (BVQ) y *Broad bean necrosis virus* (BBNV). *Polymyxa betae* transmite BSBV y BVQ, mientras que BBNV es transmitido por *P. graminis*.

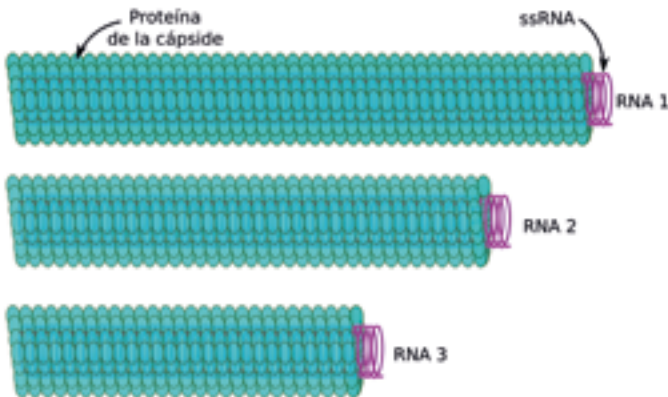


Figura 158. Morfología del virión del *Potato mop-top virus* (PMTV) consistente de tres partículas de varillas rígidas, cada una provista de una molécula de +ssRNA.

Fuente: : autores

Los virus de este género poseen viriones con simetría helicoidal cuyas longitudes varían de 60 a 310 nm, dependiendo del virus y el RNA. PMTV posee tres segmentos de RNA con tamaños de 6,4 kb, 3 kb y 2,5 kb, con caperuzas hacia el extremo 5' y una estructura tipo tRNA hacia el extremo 3' (figura 158).

El RNA 1 codifica para una proteína que tiene motivos de Mtr y Hel (ORF 1) y una proteína generada por supresión del codón de finalización del ORF 1 con motivos de RdRp. Cerca del extremo 3' del RNA 2 se presenta una proteína asociada a la transmisión por vector y generada a partir de la supresión del codón de terminación del ORF que codifica para CP. Esta proteína parece ser la responsable de la pérdida de la estructura helicoidal en los extremos del RNA durante el proceso de desensamblaje del virus. El RNA 3 codifica para cuatro polipéptidos de 51, 21, 13 y 8 kDa, respectivamente. Los primeros tres presentan secuencias similares a proteínas de TGB de otros virus, involucradas en el movimiento célula a célula del virus. La función de la cuarta proteína, rica en cisteína (CRP), parece ser la de actuar en el incremento de la virulencia;

sin embargo, en apariencia, no es indispensable para que se cumpla el proceso infectivo (figura 159).

Las secuencias de los virus de este género comparten menos del 80 % de identidad cuando se comparan sus genomas completos y menos del 90 % cuando el análisis se restringe a las secuencias de aminoácidos de CP. También difieren en su rango de hospedantes, especies de vectores, morfología de los cuerpos de inclusión en las células, relaciones serológicas y componentes del genoma, particularmente presencia o ausencia de CRP.

Como se indicó, PMTV se transmite por zoosporas de *S. subterranea* y BSBV por *P. betae*, ambos plasmodiofóridos que afectan los sistemas radiculares de sus hospedantes papa y remolacha, respectivamente. Estos virus también se pueden transmitir por semilla asexual y pueden permanecer en las estructuras de resistencia de sus vectores, por varios años, en el suelo, lo que representa un gran problema desde el punto de vista epidemiológico.

{ 205 }

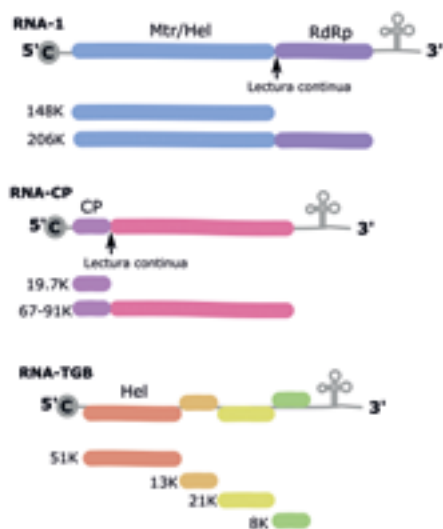


Figura 159. Organización genómica del *Potato mop-top virus* (PMTV), que contiene tres segmentos de +ssRNA y utiliza diferentes estrategias de expresión de proteínas, incluyendo Readthrough y sgrNA.
Basado en: King et al. 2012

Los principales síntomas que causa PMTV en cultivos de regiones templadas corresponden a mosaicos tipo *aucuba* en las hojas, y anillos necróticos y agrietamientos en los tubérculos. En las variedades cultivadas en los Andes estos síntomas no son tan evidentes, y en su lugar se presentan amarillamientos foliares, enanismos y acortamiento de entrenudos (figura 160). En condiciones experimentales, el virus puede infectar plantas de las familias *Chenopodiaceae*, *Solanaceae* y *Tetragoniaceae*.

Género *Tobamovirus*

Este género es bastante representativo de la virología vegetal por cuanto su especie tipo es el *Tobacco mosaic virus* (TMV), virus cuya investigación sirvió de base para establecer el nacimiento mismo de la disciplina a finales del siglo XIX.

Los tobamovirus se caracterizan por presentar genomas con un segmento de +ssRNA, proteínas de movimiento

FOTOS: (a) Jorge Tenorio (b) José Fernando Gil



Figura 160. a. Síntomas de mosaico tipo *aucuba* en plantas de papa infectadas por *Potato mop-top virus* (PMTV); b. Síntomas sistémicos en una planta indicadora de *N. benthamiana* inoculada con PMTV.

30K, fácil transmisión por contacto y, a veces, por semilla sexual. Sus viriones corresponden a varillas rígidas de 18 nm de diámetro y 300-310 nm de longitud y es frecuente que generen grandes agregados tanto cristalinos como amorfos (*x bodies*), que se pueden observar aún bajo el microscopio óptico con tinciones diferenciales.

Los genomas tienen de 6,3 a 6,6 kb y presentan de modo característico secuencias de cerca de 70 nt en la región 5'-UTR, ricas en repeticiones AAC; esta región está, además, provista de una caperuza de 5-metil guanosina, mientras que en sus extremos 3' es frecuente la ocurrencia de estructuras tipo tRNA. Por lo general, los genomas codifican para al menos cuatro proteínas: una de 124-132 kDa que contiene los dominios mtr y hel, una de 181-189 kDa que comprende el dominio RdRp y por lo regular se sintetiza por lectura continua (*readthrough*). Los otros dos ORF se expresan por sgrna coterminales en el extremo 3' y codifican para una proteína de movimiento y para la CP, respectivamente.

Los viriones de los tobamovirus presentan una fuerte actividad antigénica y con facilidad pueden ser detectados por pruebas serológicas. Sus rangos de hospedantes naturales son por lo general restringidos, pero, a modo experimental, son de fácil transmisión a diferentes plantas indicadoras. Por lo común, inducen

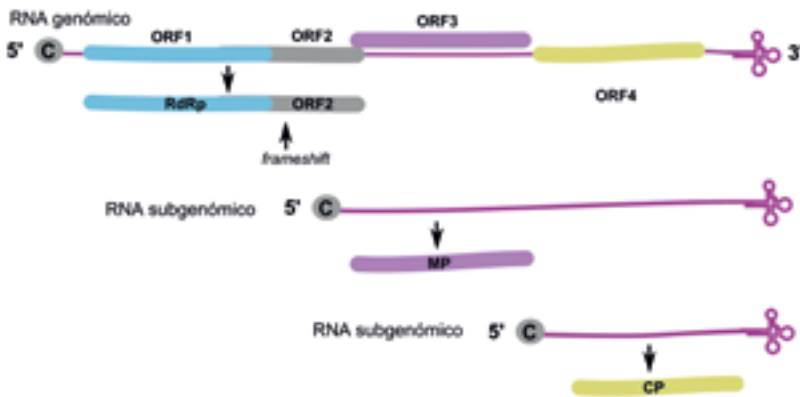


Figura 161. Organización genómica del *Tobacco mosaic virus* (TMV) que contiene un segmento de +ssRNA de 6,4 kb y utiliza diferentes estrategias de expresión de proteínas, incluyendo *frameshift* y sgrNAS.

Fuente: King et al. 2012

FOTOS: (a) Jairo Castaño Zapata
(b y c) Paulina Germania Villena Ochoa

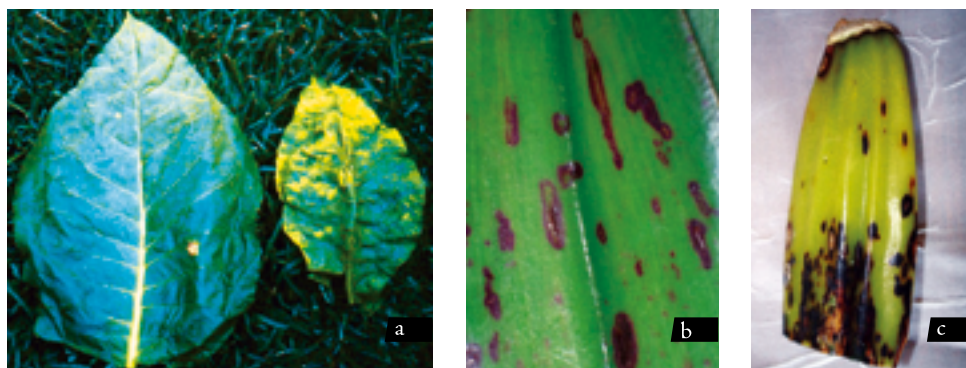


Figura 162. a. Síntomas de mosaico y disminución del tamaño de la lámina foliar de tabaco causado por *Tobacco mosaic virus* (TMV); b-c. Manchas necróticas anilladas causadas por *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) en orquídeas.

síntomas del tipo mosaico, moteados, amarillamientos foliares y aclaramiento de venas; aunque algunos producen síntomas muy tenues (latentes) que son difíciles de identificar en el campo o, por el contrario, algunas especies pueden provocar síntomas muy severos, como las manchas y bandeados necróticos (figura 162).

Los criterios principales para delimitar las especies del género *Tobamovirus* corresponden a niveles de identidad de nt menor que 90% para todo el genoma, sus rangos de hospedantes y las relaciones antigénicas de sus CP. Este género presentaba hasta el IX Reporte del ICTV 25 especies reconocidas y seis propuestas; algunas de las más importantes son TMV, TOMV y *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) (en plantas ornamentales), cuyos genomas se pueden encontrar bajo los números de accesión: VO1408, AF332868 y X82130, respectivamente.

Familia Potyviridae

Esta familia debe su nombre al género *Potyvirus*. Dentro de ella se encuentran los géneros *Brambyvirus* (1 especie), *Bymovirus* (6 especies), *Ipomovirus* (4 especies), *Macluravirus* (6 especies), *Potyvirus* (143

especies), *Rymovirus* (3 especies), *Tritimovirus* (4 especies) y tres especies sin género asignado: *Spartina mottle virus* (SPMOV), *Sugarcane streak mosaic virus* (SCSMV) y *Tomato mild mottle virus* (TOMMMV). En conjunto con *Geminiviridae*, *Potyviridae* es una de las familias taxonómicas con mayor número de especies de virus de plantas, en este caso con 170 formalmente reconocidas por el IX Reporte del ICTV.

Los virus de la familia *Potyviridae* se caracterizan por su morfología filamentososa y flexuosa de 11 a 15 nm de diámetro con simetría helicoidal y longitudes de 650 a 900 nm para aquellos monopartitas (*Brambyvirus*, *Ipomovirus*, *Macluravirus*, *Potyvirus*, *Rymovirus*, *Tritimovirus*) y de 200-300, 500-600 nm para los virus bipartitas del género *Bymovirus*. Su RNA genómico es de cadena sencilla con sentido positivo; llevan una proteína VPg de alrededor de 24 kDa unida covalentemente al extremo 5' y una cola de poli-A de longitud variable (20 a 160 nt) en el extremo 3'.

El genoma comprende un solo ORF que codifica para una poliproteína de 340-370 kDa, con posterioridad clivada por proteasas virales para generar las proteínas funcionales del virus. Excepto para el género *Bymovirus*,



Figura 163. Morfología del virión de potyvirus, consistente de una varilla flexuosa de 650-900 nm de longitud x 11-15 nm de diámetro y una molécula de +ssRNA como genoma.

Fuente: autores

que tiene dos segmentos de +ssRNA (7,3-7,6 kb y 3,5-3,7 kb), los genomas son monopartitas con 9,3 a 10,8 kb y están rodeados por cerca de 2.000 copias de la proteína de cápside. Los miembros de la familia *Potyviridae* también se caracterizan por inducir inclusiones cilíndricas citoplasmáticas (ci) del tipo ruedas de carreta (*pinwheels*) o agregados laminares en las células de sus hospedantes (figura 164). Otra proteína viral, HC-Pro (*Helper component protease*) provoca inclusiones amorfas (AI) en las que casi siempre se encuentran asociadas las partículas virales con organelos celulares degradados. Esta proteína HC-Pro también posee funciones de proteinasa y se asocia, además, con la transmisión por el vector.

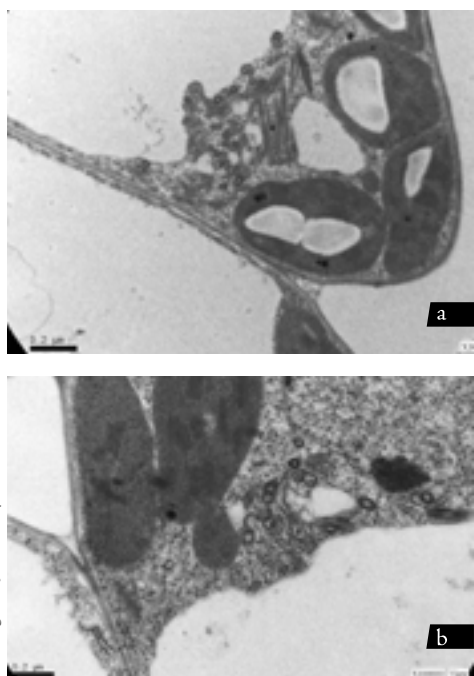


Figura 164. Inclusiones citoplasmáticas inducidas por potyvirus en las células de sus hospedantes. a. Tipo cilíndricas - agregados laminares; b. Tipo espirales (*pinwheels*).

Los potyviridos inducen una gran diversidad de síntomas en plantas tanto mono como dicotiledóneas, tales como mosaicos, moteados, enanismos, aclaramiento de venas, manchas anulares, deformación de tejidos y muchos otros. Es posible que algunas de las enfermedades que causan estos virus (ejemplos: PRSV, PVY, BCMV, ZYMV) produzcan fuertes pérdidas en los



Figura 165. a-b. Síntomas de mosaico y manchas anulares en frutos de papaya por infección de *Papaya ringspot virus* (PRSV); c-d. Deformación de frutos y hojas de calabacín por *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV).

cultivos agrícolas (figura 165). Sus rangos de hospedantes son habitualmente intermedios en número de plantas infectadas de forma natural, y amplio en el rango experimental, dada su fácil transmisión mecánica.

Los miembros de los géneros *Potyvirus* y *Macluravirus* se transmiten por áfidos casi siempre de manera no persistente, mientras que aquellos de los géneros *Rymovirus* y *Trititimovirus* tienen a diferentes ácaros de la familia *Eriophyidae* como vectores de forma semipersistente. Los bymovirus se transmiten por pseudohongos plasmodiofóridos (por ejemplo, *Polymyxa graminis*) y, por último, los ipomovirus tienen como principales vectores a las moscas blancas.

Los criterios básicos para demarcar los géneros de la familia *Potyviridae* incluyen los niveles de identidad de nucleótidos inferiores al 46% (no útil para separar rymovirus de potyvirus), mientras que para diferenciar especies se utilizan valores de identidad inferiores al 76% y 82% para secuencias de nucleótidos y aminoácidos en todo el genoma, o de 76-77% cuando solo se cuenta con secuencias de CP. La ubicación de los sitios de corte de proteasas virales en las poliproteínas, rango de hospedantes, morfología de cuerpos de inclusión y relaciones antigénicas también son útiles para las definiciones taxonómicas de este grupo.

Género *Potyvirus*

El nombre del género *Potyvirus* se deriva de la especie *Potato virus Y*. El género posee 143 especies aprobadas, lo que lo convierte en el más numeroso de los siete

géneros de esta familia. Las partículas virales tienen una longitud de 680 a 900 nm y un genoma de +ss-RNA con alrededor 9.700 nt.

Como se había anotado, el genoma contiene un solo ORF que codifica para una poliproteína de 340-370 kDa, que se procesa por acción de tres proteasas en diez proteínas: P1, componente asistente (*Helper Component*); P3, de inclusión cilíndrica (CI); inclusión nuclear A (NIA); inclusión nuclear B (NIB); proteína de cápside (CP) y dos proteínas putativas denominadas 6K1 y 6K2. Las proteasas corresponden a la proteinasa P1 y HC-pro, que catalizan solo reacciones autoproteolíticas en los extremos C-terminales, mientras que los clivajes restantes se catalizan mediante mecanismos trans y autoproteolíticos por la proteína de inclusión nuclear (NIA-pro), un homólogo de la proteinasa del Picornavirus 3C.

El procesamiento y función de todas estas proteínas es aún controversial pero se cree que muchas de ellas son multifuncionales. Recientemente se ha demostrado la presencia de un ORF corto embebido en P3 que se expresa como una proteína de fusión denominada P3N-PIPO por un mecanismo de cambio en el marco de lectura -1. En apariencia, este producto cumple funciones en el movimiento intercelular de los potyvirus (figura 166).

{ 209 }

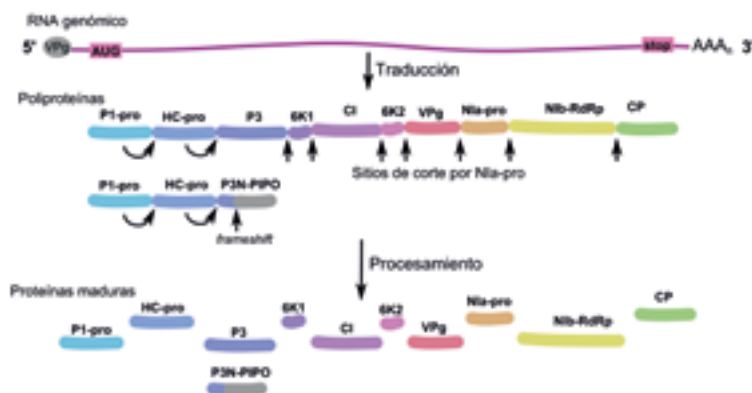


Figura 166. Organización genómica de potyvirus que contiene un segmento de +ssRNA de 9,7 kb y utiliza la estrategia de expresión poliproteína para dar origen a 10 proteínas maduras. Además, P3N-PIPO se expresa por *frameshift* -1 a partir de la secuencia que codifica para P3

Basado en: King et al. 2012

Muchos potyvirus tienen rangos de hospedantes restringidos, aunque algunas especies pueden ser ampliamente polífagas, lo que afecta hospedantes de muchas familias botánicas diferentes. Por lo general, los potyvirus se transmiten por áfidos de manera no persistente, al igual que de modo mecánico. Algunos también se transmiten por semilla sexual; se destacan los casos de *Pea seed-borne mosaic virus* (psbmv), *Zucchini yellow mosaic virus* (zymv) y *Bean common mosaic virus* (bcmv).

Los síntomas producidos por la infección con potyvirus pueden ser muy diversos y varían según la planta afectada, la especie/aislamiento viral y las condiciones ambientales. Es usual que se caractericen por mosaicos, moteados, deformación de hojas y deformación de los brotes. Es frecuente que también en algunas especies vegetales se presente un bandeo oscuro de nervaduras de hojas totalmente expandidas (figura 167). En todos los casos se produce una reducción en el desarrollo vegetativo que generalmente está asociada con pérdidas en los rendimientos

de los cultivos, por lo que este grupo de virus es uno de los más limitantes para la producción de diversas especies de plantas en las regiones tropicales y subtropicales.

La especie tipo de este género, PVY, es un complejo de diferentes variantes que históricamente se han dividido en tres razas principales: PVY-O, PVY-N, y PVY-C, basadas en los síntomas inducidos en *Nicotiana tabacum* cv. Samsun y *Solanum tuberosum*. Más tarde se incorporó a la clasificación de sus variantes el criterio del tipo de antigenicidad de su proteína de cápside y los genes de resistencia que la especie vence en el hospedante, lo que definió nuevas razas como PVY-Z, que es serológicamente relacionada a PVY-O, pero que sobrepasa los genes *Nytr* y *Nc* y elicit el gen *Nz* en las plantas hospedantes.

Otro grupo se denomina PVY-N-wilga (PVY-N-wi), con propiedades biológicas similares a PVY-N, pero serológicamente relacionado con PVY-O, lo que permite deducir que presenta un genoma recombinante de ambas variantes. En los últimos años se ha detectado una variante adicional denominada PVY-NTN, relacionada en términos serológicos con PVY-N, pero que causa anillos necróticos en tubérculos de papa, una enfermedad conocida como PTNRD (*Potato tuber necrotic ringspot disease*) y puede ocasionar pérdidas hasta del 100% en este cultivo (figura 168).

PVY se transmite de forma mecánica, por injerto y por áfidos de manera no persistente, en especial por la especie *Myzus persicae*, aunque también se han reportado *Aphis fabae*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus* (*Nectarosiphon*) *certus*, *Myzus* (*Phorodon*) *humuli* y *Rhopalosiphum insertum*. Se ha encontrado que el PVY puede también facilitar la transmisión de otros virus como el *Potato aucuba mosaic virus* (PAMV). Experimentalmente, se utilizan especies de las familias *Solanaceae*, *Commelinaceae* y *Chenopodiaceae* para las pruebas biológicas de transmisión y expresión de síntomas, así como también para obtener fuente de inóculo viral.

{ 210 }

FOTOS: (a) Jairo Castaño Zapata (b) Francia Varón



Figura 167. a. Síntomas de bandeo oscuro de nervaduras de hojas de frijol causado por el *Bean common mosaic virus* (bcmv); b. Síntomas de mosaico con deformación de brotes inducido por *Soybean mosaic virus* (smv).

FOTOS: Steen Lykke Nielsen



Figura 168. Síntomas en plantas de papa de mosaico y anillos necróticos de tubérculos causados por las razas PVY-O y PVY-NTN, respectivamente.

Familia *Alphaflexiviridae*

La familia *Alphaflexiviridae* pertenece al orden *Tymovirales* y está compuesta por seis géneros: *Allexivirus* (8 especies), *Botrexvirus* (1 especie, Micovirus), *Lolavirus* (1 especie), *Mandarivirus* (1 especie), *Potexvirus* (35 especies) y *Sclerodarnavirus* (1 especie, Micovirus), que suman 57 especies en total.

Los virus de este grupo taxonómico se caracterizan por poseer viriones filamentosos flexuosos entre 470 a 800 nm y 12-13 nm de diámetro, constituidos por subunidades de un solo tipo de CP (figura 169). Son monopartitas con +ssRNA con tamaños de 5,4 a 9 kb y cinco a seis ORF. Hacia el extremo 5' codifican para la replicasa viral (*Potex-Like*) que contiene motivos mtr, hel y rdrp; hacia el extremo 3' se ubica el gen cp (generalmente el ORF5), cuyos productos proteicos tienen de 22 a 44 kDa, dependiendo del género. Los ORF 2 a 4 codifican para el triple bloque de genes

(TGB). En algunos géneros como *Allexivirus*, *Lolavirus* y *Mandarivirus* se presenta un ORF adicional que codifica para una proteína de unión a ácidos nucleicos con motivos característicos del tipo *Zinc binding finger* (figura 170).

En esta familia hace poco se incluyó el género *Sclerodarnavirus* que carece de cápside e infecta al hongo *Sclerotinia sclerotiorum*; de allí deriva su nombre *Sclerotinia sclerotiorum debilitation-associated RNA virus* (SSDRV). El virus solo posee un ORF que codifica para la replicasa, cuya secuencia se encuentra filogenéticamente relacionada con aquellas de los géneros *Allexivirus*, *Potexvirus* y *Mandarivirus*. La carencia de cápside es razón suficiente para que se haya considerado que se trataba de un género diferente.

Los virus de esta familia afectan un amplio número de plantas mono y dicotiledóneas, aunque individualmente sus especies tienen rangos muy concretos.



Figura 169. Morfología del virión de un miembro de la familia *Alphaflexiviridae*, consistente de una varilla flexuosa de 470-800 nm de longitud por 12-13 nm de diámetro y una molécula de +ssRNA como genoma.

Fuente: autores

Basado en: King et al. 2012

respectivamente, involucradas en el movimiento del virus célula a célula. El ORF 2 también contiene un segundo motivo Hel, mientras que el ORF 5 codifica para la proteína CP (figura 172). Los UTR de los virus de este género juegan un papel importante en la regulación y el movimiento de los mismos a través de las células de su hospedero. El 5'-UTR está implicado en la regulación de la síntesis del grNA, sgrNA, la encapsidación y el transporte del virus por los plasmodesmos. Por su parte, el 3'-UTR está involucrado en la síntesis tanto de la cadena positiva del RNA como de la negativa. Es frecuente que los viriones presenten, además del RNA genómico, de dos a tres sgrNA coterminales en 3'.

Dentro del género *Potexvirus* se han descrito 35 especies. Estos virus se transmiten fundamentalmente de forma mecánica, aunque algunas especies lo hacen por semilla, como el *White clover mosaic virus* (WCLMV). El PVX, en particular, se puede transmitir por inoculación mecánica y de manera natural por contacto entre plantas, pero no por polen o semilla. Son plantas indicadoras útiles para su estudio diferentes especies como *Brassica campestris* ssp. *rapa*, *Datura stramonium*, *Gomphrena globosa*, *Nicotiana tabacum* y *Solanum tuberosum*. Con referencia a la dispersión de estos virus, un caso excepcional corresponde al *Potato aucuba mosaic virus*, pues puede ser transmitido por áfidos, siempre y cuando se presente una HP (*helper protein*) de un potyvirus acompañante.

Los síntomas que induce PVX en papa varían dependiendo de su interacción con otros virus; pueden corresponder a mosaicos, moteados, manchas anulares y necrosis. En *Datura stramonium* y *N. tabacum* produce anillos cloróticos o moteados foliares. Por otra parte, virus como el *Cymbidium mosaic virus* (CYMV) causa clorosis, deformación y manchas necróticas de la lámina foliar de orquídeas y mosaico en pétalos y sépalos, así como necrosis precoz (figura 173).

Entre los virus de importancia económica de este género está el CYMV en plantas ornamentales, PVX y *Cassava common mosaic virus* (CSCMV), este último especialmente limitante en cultivos de yuca de Brasil. Sus genomas se pueden encontrar con los números de accesión U62963, D00344 y U23414, respectivamente.

Familia Betaflexiviridae

La familia Betaflexiviridae al igual que Alphaflexiviridae, pertenece al orden Tymovirales. Está integrada por los géneros *Capillivirus* (2 especies), *Carlavirus* (43 especies), *Cittrivirus* (1 especie), *Foveavirus* (4 especies), *Trichovirus* (5 especies), *Vitivirus* (6 especies), además de seis especies sin género asignado: *African oil palm ringspot virus* (AOPRV), *Banana mild mosaic virus* (BANMMV), *Cherry green ring mottle virus* (CGRMV), *Cherry necrotic rusty mottle virus* (CNRMV), *Potato virus T* (PVT) y *Sugarcane striate mosaic-associated virus* (SCSMV), para un total de 67 especies.

{ 213 }

fotos: Paulina Germania Villena Ochoa



Figura 173. a. Síntomas de clorosis y manchas necróticas de la lámina foliar; b. Mosaicos de flores de orquídeas causados por *Cymbidium mosaic virus* (CYMV)

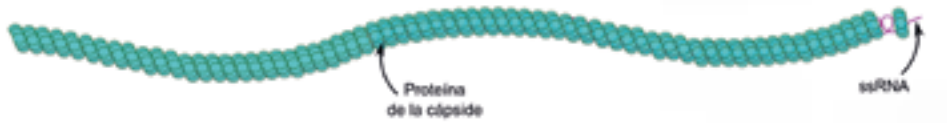


Figura 174. Morfología del virión de un miembro de la familia *Betaflexiviridae*, consistente de una varilla flexuosa de 600-1.000 nm de longitud por 12-13 nm de diámetro y una molécula de +ssRNA de 6,5 a 9 kb.
Fuente: : autores

Los virus de este grupo se caracterizan por presentar viriones helicoidales flexuosos de 600 a 1000 nm de longitud y de 12 a 13 nm de ancho (figura 174). Poseen genomas de tamaños que oscilan entre 6,5 y 9 kb de +ssRNA, cuyo extremo 5' tiene una caperuza de metil-guanosina y su extremo 3' tiene una cola poli-A. Otras características determinantes de la familia son su rdp del tipo Carla con tamaños que varían de 150 a 250 kDa, la presencia de una o varias proteínas de movimiento (TGB en *Carlavirus* y *Foveavirus* y 30K en los demás géneros) y su CP de 22 a 44 kDa, dependiendo del género viral. El prefijo del nombre de esta familia (*Beta*) se derivó del hecho que fue la segunda establecida luego de la división de la antigua familia *Flexiviridae*.

Los miembros de esta familia pueden presentar de tres a seis ORF, según el género en que se encuentren, pero por lo común se caracterizan porque su ORF 1 codifica para la replicasa viral del tipo *Alphavirus-like*; además, muchos de sus miembros también presentan dominios AlkB y *papain-like protease* (P-Pro), conjuntamente con Mtr y Hel en el ORF 1.

El genoma de los citrivirus es uno de los que presenta tres ORF solamente: ORF 2 (para proteína de movimiento 30 K) y ORF 3 (para CP), que están separados por una pequeña región intergénica y se expresan por sgrNA, mientras que el ORF 1, que codifica para la replicasa, lo hace directamente del RNA genómico (figura 175).

Es habitual que los miembros de la familia *Betaflexiviridae* tengan un rango de hospedantes restringido y es frecuente, con excepción de los carlavirus, que sus especies afecten plantas con desarrollo de xilema secundario (que producen madera), incluyendo árboles, arbustos y bejucos (lianas), aunque provocan síntomas tenues o moderados. La transmisión es fundamentalmente por medios mecánicos, pero los trichovirus también tienen como vectores diferentes ácaros y la mayoría de carlavirus se transmiten de manera no persistente por áfidos, y a veces, por cochinillas harinosas, moscas blancas e insectos escala.

Los géneros en esta familia se distinguen por sus arreglos genómicos, por los modos de transmisión

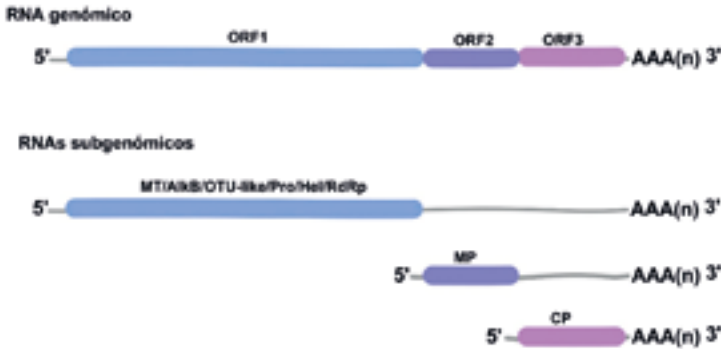


Figura 175. Organización genómica del *Citrus leaf blotch virus* (CLBV) que contiene un segmento de +ssRNA de 8,7 kb y utiliza la estrategia de expresión sgrNA para dos de sus ORF.
Basado en: King et al. 2012

y por sus niveles de identidad de nt en los genes que codifican para CP y replicasa viral (<45%); para la delimitación de especies estos valores son frecuentemente menor que 72% para nt y menor que 80% para aa.

Género Carlavirus

El género está conformado por 43 especies reconocidas y 12 propuestas en el IX Reporte del ICTV. Su especie tipo corresponde al *Carnation latent virus* (CLV). Sus viriones contienen partículas flexuosas de 470 a 1.000 nm, con diámetros de 12 a 15 nm, con simetría helicoidal (figura 174). Los genomas son de +ssRNA con tamaños de 5,8 a 9 kb; hacia el extremo 5' presentan una caperuza, y hacia el extremo 3' tienen una cola de poli-A. Poseen seis ORF. El 1 representa alrededor del 70% del genoma y tiene tres dominios: hacia el N-terminal de mtr, hel en la parte central, y rdrp hacia el extremo C-terminal; esta última proteína es autocatalítica. Los ORF 2, 3 y 4 forman el TGB involucrado en el movimiento de la partícula viral; la proteína 2 posee un motivo hel adicional y las proteínas 3 y 4 presentan regiones posiblemente transmembranales muy hidrofóbicas.

Las proteínas mencionadas se expresan mediante sgrna; aquel que se genera a partir de los ORF 5 y 6 da origen a las proteínas CP y CRP (*cysteine-rich protein*) de 11 a 16 kDa, de las cuales, la última, permite la unión del RNA a la cápside y se cree que también participa

en la supresión del silenciamiento de genes del hospedante y en la replicación del genoma viral (figura 176). Cabe destacar que las replicasas de estos virus guardan homología con las de *Potexvirus*, *Closterovirus* y *Tymovirus*.

Como se mencionó, la transmisión de los carlavirus ocurre por inoculación mecánica, o por medio de áfidos de forma no persistente. Algunas especies son transmitidas por *Bemisia tabaci* (por ejemplo, *Cowpea mild mottle virus*, CPMV) o a través de semilla sexual.

Los síntomas característicos de los carlavirus se enmarcan entre infecciones latentes, mosaicos (como *Poplar mosaic virus*, POPMV) y necrosis (*Pea streak virus*, PESV, entre otros); en ocasiones, producen pérdidas significativas en cultivos como la papa (por ejemplo, *Potato virus M* - PVM y *Potato virus S* - PVS).

Con respecto al PVS, se reconocen dos razas principales: PVS-A (PVS Andino) y PVS-O (PVS ordinario). Las homologías entre ambas razas para las secuencias que codifican CP y la proteína de 11 kDa son de 93% y 79%, respectivamente. En estas proteínas también se encuentra el mayor número de aminoácidos que difiere entre ambas razas, lo que sugiere una explicación a los distintos tipos de transmisión y sintomatologías que inducen. Así, por ejemplo, PVS-O no causa síntomas en la mayoría de cultivares de papa, pero en ocasiones produce rugosidades leves en las hojas; por su parte, PVS-A induce fuertes síntomas

{ 215 }

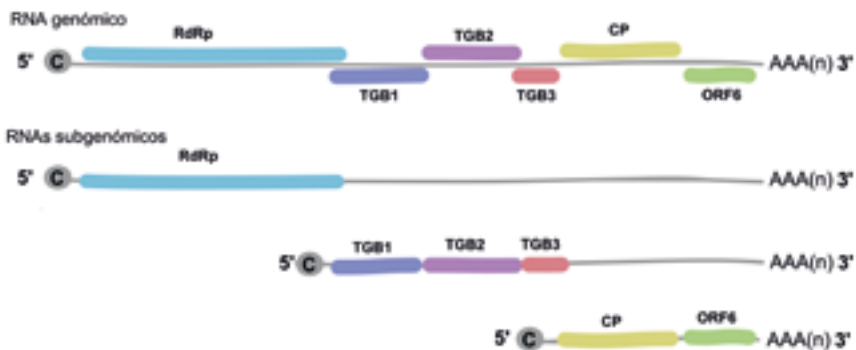


Figura 176. Organización genómica del *Potato virus S* (PVS), un carlavirus que contiene un segmento de +ssRNA de 8,7 kb y utiliza la estrategia de expresión sgrna para varios de sus ORF.

Basado en: King et al. 2012

que incluyen senescencia prematura, caída de hojas, en especial en plantas con infección secundaria y pérdidas superiores al 20% cuando se encuentra asociado con otros virus (por ejemplo, PVX).

La transmisión de PVS-O ocurre sobre todo por contacto, más que por áfidos, mientras que PVS-A se concentra más en el tejido y los áfidos, como *M. persicae*, lo transmiten eficientemente. Estos virus también pueden ser transmitidos a partir de tubérculos infectados e incluso por plantas generadas por multiplicación *in vitro*.

Familia *Luteoviridae*

Derivada del género *Luteovirus*, esta familia se divide, de acuerdo con el origen filogenético del gen de la replicasa y con las propiedades biológicas de sus miembros, en tres géneros: *Enamovirus* (1 especie), *Luteovirus* (6 especies) y *Polerovirus* (13 especies). Además abarca ocho especies sin género asignado: *Barley yellow dwarf virus-GPV* (BYDV-GPV), *Barley yellow dwarf virus-RMV* (BYDV-RMV), *Barley yellow dwarf virus-SGV* (BYDV-SGV), *Chickpea stunt disease associated virus* (CPSDAV), *Groundnut rosette associated virus* (GRAV), *Indonesian soybean dwarf virus* (ISDV), *Sweet potato leaf speckling virus* (SPLSV) y *Tobacco necrotic dwarf virus* (TNDV), lo que suma un total de 28 especies en la familia.

Los viriones son partículas isométricas de 25 a 30 nm de diámetro, compuestos por dos proteínas de cápside con 180 copias y configuración T=3 (figura 177). Poseen un genoma de +ssRNA de 5,6 a 6 kb, con entre cinco y seis ORF (0 a 5). El ORF 0 está presente en polerovirus y enamovirus, pero no en luteovirus y codifica para una proteína que se cree es supresora de silenciamiento de RNA en el hospedante, mientras que los ORF 1 y 2 se traslapan y codifican para proteínas relacionadas con la replicación. El ORF 3 codifica para la CP mayor y el ORF 5 para la menor (CPM); se traslapa completamente con el ORF 4 (no en *Enamovirus*) para codificar para una proteína en apariencia asociada con el movimiento sistémico del virus en las plantas. Algunos luteovirus y polerovirus también tienen un sexto ORF que codifica para una pequeña proteína (6 kDa) de función desconocida.

La expresión de los genes en estos virus es variada y compleja; presenta estrategias como lectura continua (*readthrough*), cambio en el marco de lectura (*frameshift*), sgrNA y transactivación de traducción en el extremo 3'.

Los luteovirus y polerovirus son fuertemente inmunogénicos. Por lo general, los rangos de hospedantes son restringidos en extremo; por ejemplo, BYDV solo infecta especies de *Poaceae*, mientras que *Soybean dwarf virus* (sbdv) leguminosas. Sin embargo, existen casos de virus polífagos como el *Beet western yellows virus* (BWYV) que infecta más de 150 plantas de 20 familias botánicas diferentes.

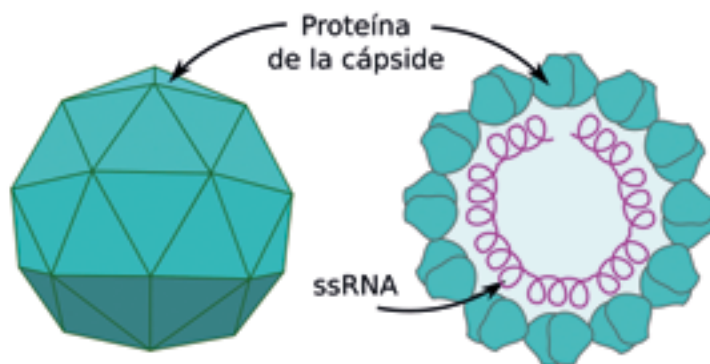


Figura 177. Morfología del virión de un miembro de la familia *Luteoviridae*, consistente de una partícula isométrica de 25-30 nm de diámetro y una molécula de +ssRNA como genoma de 5,6 a 6 kb.

Basado en: ViralZone c2011

Los luteoviridos se transmiten por áfidos de manera persistente pero no propagativa. Muchos de ellos son virus restringidos al floema de sus hospedantes (como PLRV y BYDV) y, por tanto, de difícil transmisión mecánica, aunque existen excepciones como el umbravirus *Pea enation mosaic virus-2* (PEMV-2).

Los síntomas que producen los luteoviridos están asociados a daños en los tubos cribosos y células acompañantes del floema y pueden incluir la necrosis de dichos tejidos con los efectos deletéreos consiguientes sobre la translocación de nutrientes y el desarrollo de las plantas. Los amarillamientos y enanismos son también característicos de las enfermedades que causan estos virus en sus hospedantes (figura 178).



FOTO: Graciela Truol

Figura 178. Plantas de trigo con falta de desarrollo radicular y aéreo (enanismo) (compárese con planta control no infectada), amarillamientos y hojas con coloraciones rojizas o púrpuras, como resultado de la infección por Barley yellow dwarf virus (BYDV).

Género Polerovirus

Se caracterizan por presentar cápside sin envoltura externa con simetría icosaédrica y diámetros de alrededor de 23 nm. Los genomas ordinariamente tienen entre 5,6 y a 6 kb con vpg unidas a su extremo 5'. Presentan al menos siete ORF. El ORF 0 codifica para una proteína de 29 kDa, que es indispensable para la acumulación del virus. El ORF 1 tiene un motivo de proteinasa y se cree que de él se deriva la proteína vpg. El ORF 2 codifica para la replicasa a partir de un mecanismo de cambio en el marco de lectura -1. El ORF 3 codifica para la proteína de la cápside viral y se fusiona con el ORF 5 mediante supresión del codón de finalización para dar origen a una proteína que parece estar involucrada en la transmisión por áfidos, al conferir estabilidad a la partícula viral en la hemolinfa del insecto vector. El ORF 4 está involucrado con el movimiento del virus en la planta y se traslapa completamente con el ORF 3. Las únicas proteínas traducidas directamente del RNA genómico son PO derivado del ORF 0, PI del ORF 1 y la replicasa que se origina como una proteína de fusión (ORF 1+2) por cambio en el marco de lectura cerca del codón de finalización del ORF 1. La proteína rap1 (*replication-associated protein 1*) se produce por la omisión del primer codón de inicio (*Leaky scanning*) por parte del ribosoma e inicia en un inusual IRES. El resto de los ORF de los polerovirus se traducen a partir de sgrNA (figura 179).

{ 217 }

Los virus de este género son transmitidos por vectores, casi siempre áfidos, así como mediante injertos, pero no por semilla sexual, inoculación mecánica, ni a través del polen. Hace poco se encontró en Colombia evidencia experimental de la posible transmisión de un polerovirus filogenéticamente relacionado con PLRV por semilla sexual en tamarillo, aunque no fue posible definir la participación del embrión en dicho proceso.

El PLRV es la especie de mayor importancia económica de este género. El virus tiene dividido su genoma en ocho ORF densamente empaquetados, con el

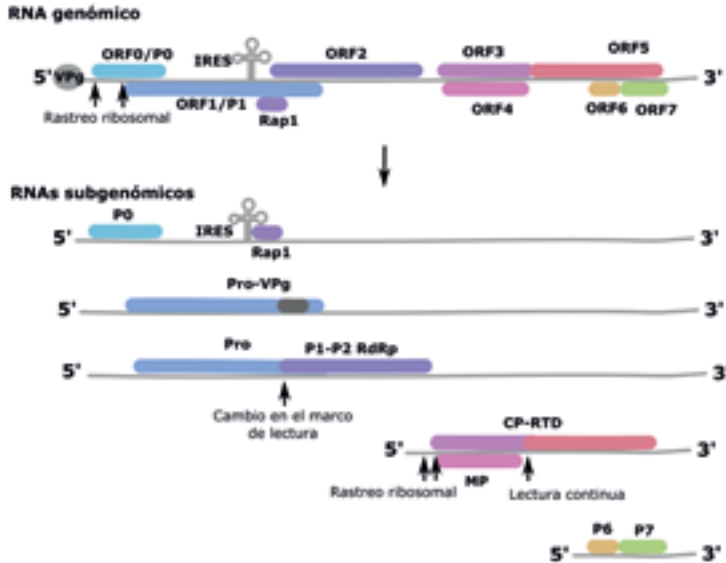


Figura 179. Organización genómica del *Potato leafroll virus* (PLRV), polerovirus que contiene un segmento de +ssRNA de 6 kb y utiliza diversas estrategias de expresión incluyendo sgrna, rastreo ribosomal (*leaky scanning*), cambio en el marco de lectura (*frameshift*) y lectura continua (*readthrough*).

Basado en: King et al. 2012

{ 218 }

ORF 1 que solapa el ORF 0 y el ORF 3 traslapado con el ORF 4. El ORF 0 está involucrado en el desarrollo de la sintomatología y se cree que es un supresor del silenciamiento de genes en sus hospedantes; P1 tiene funciones de proteasa y contiene la secuencia que codifica para VPg, así como posiblemente para una helicasa. El ORF 2 codifica para RdRp, mientras que el ORF 3 lo hace para la CP de 23 kDa. El ORF 4 codifica para una proteína de movimiento y la fusión de los ORF 3 y 5 genera una proteína estructural de 80 kDa, que se cree que es la cápside menor y participa en la transmisión del virus por áfidos. Los ORF 6 y 7 han sido descritos recientemente y, aunque sus funciones son desconocidas, se especula que el producto del ORF 7 tiene propiedades de unión a ácidos nucleicos (figura 179).

Los áfidos transmiten el PLRV de manera persistente no propagativa, que se multiplica en el floema del huésped. El insecto más eficiente para su transmisión es *M. persicae*, aunque otros como *Macrosiphum euphorbiae* también lo pueden transmitir.

Las familias taxonómicas *Amaranthaceae*, *Cruciferaeae*, *Portulacaceae* y *Solanaceae* contienen las especies que en condiciones experimentales presentan mayor susceptibilidad al virus. Los síntomas principales que ocasiona en papa corresponden a enanismo y enrollamiento de hojas, acompañados de una grave reducción en el rendimiento (figura 180). En plantas indicadoras como *Datura stramonium*, se pueden observar amarillamientos sistémicos entre venas y en *Physalis floridiana* se presenta clorosis sistémica entre venas y enrollamiento de hojas.



FOTO: Jairo Castaño Zapata

Foto: Carlos Chuquillanqui



Figura 180. a. Síntomas de enrollamiento foliar; b. falta de desarrollo (enanismo) causados por *Potato leafroll virus* (PLRV) en papa.

Familia *Closteroviridae*

Esta familia deriva su nombre del género *Closterovirus* (9 especies) y está conformada, además, por los géneros *Ampelovirus* (8 especies) y *Crinivirus* (12 especies), así como por la especie sin género asignado *Mint vein banding-associated virus* (MVbV), para sumar un total de treinta especies reconocidas por el IX Reporte del ICTV.

La clasificación taxonómica de los miembros de la familia *Closteroviridae* se basa principalmente en el modo de transmisión y en las características del RNA genómico. Sus miembros poseen viriones flexuosos con un diámetro promedio de 10-13 nm y longitudes de 650 a 900 nm para virus con genoma particionado (*Crinivirus*), o 1.200 a 2.200 nm en virus con genoma monopartita (*Ampelovirus* y *Closterovirus*) (figura 181). Los genomas tienen un rango de tamaños entre 15 y 20 kb; hacia el extremo 3' poseen terminaciones

con estructuras tipo pseudonudos (*pseudo-knot*) o asas (*hairpin*). Hacia el extremo 5' probablemente tienen una caperuza de nucleótidos metilada. Otra característica distintiva de esta familia viral es la presencia de genes que codifican para proteínas homólogas a las proteínas celulares de choque térmico 70 (HSP70h: *heat shock proteins*) y para una CP análoga o menor (CPm), que aparentemente encapsida el extremo 5' del RNA viral.

Los closteroviridos son unos de los grupos de virus de plantas que presentan los genomas más extensos y con las mayores tasas de recombinación genética, lo que explica el porqué de las grandes diferencias que se encuentran en la organización de sus genomas.

Es usual que contengan los ORF 1A-1b, que codifican para replicasas virales, además de genes para una proteína hidrofóbica de 6K, HSP70h, una proteína de 60 kDa, CP y CPm; estas últimas pueden presentar duplicaciones en los genomas de diferentes closteroviridos. Se cree que la HSP70h está involucrada en el movimiento célula-célula del virus, ensamblaje de las partículas y replicación, mientras que la proteína de 60 kDa es responsable de la unión de CPm y HSP70h con la región terminal 5' del genoma. Otras proteínas relacionadas con supresores del silenciamiento de RNA y diferentes proteasas se generan en algunas especies de estos virus. Los genomas de los closteroviridos, por lo común, se expresan por una combinación de diferentes estrategias que incluyen poliproteínas, cambio en el marco de lectura y sgrNA (figura 182).

{ 219 }



Figura 181. Morfología del virión de un miembro de la familia *Closteroviridae*, consistente en una varilla flexuosa de 1.200-2.200 nm de longitud x 10-13 nm de diámetro y una molécula de +ssRNA como genoma de 15 a 20 kb.

Fuente: autores

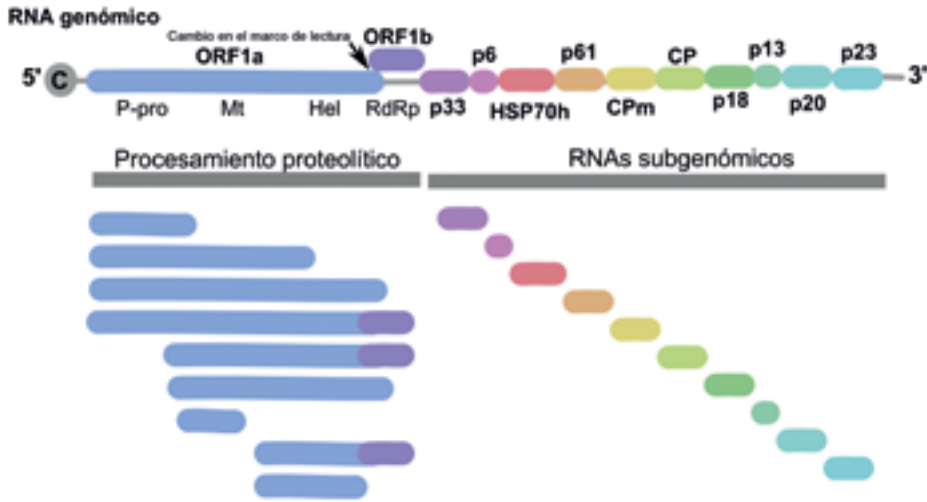


Figura 182. Organización genómica del *Citrus tristeza virus* (CTV) que contiene un segmento de +ssRNA de 19,2 kb y utiliza diversas estrategias de expresión incluyendo poliproteína, sgrNA y cambio en el marco de lectura (*frameshift*). Basado en: King et al. 2012

{ 220 }

El rango de hospedantes de los miembros de esta familia es ordinariamente restringido, excepto para algunos miembros del género *Crinivirus*. Por lo regular inducen síntomas de tipo amarillamientos, enanismos, deformación de frutos, punteaduras (*pitting*), acanaladuras en corteza de árboles y necrosis en floema, entre otros (figura 183). Es habitual que estos virus se transmitan por vectores como áfidos, moscas blancas y pseudococcidos de forma semipersistente y con dificultad por medios mecánicos; además, la propagación asexual (por ejemplo, injertos, acodos, tubérculos) es un mecanismo de dispersión muy importante para algunos de los virus más limitantes de este grupo.

Es habitual que los closteroviridos induzcan diferentes cuerpos de inclusión en sus hospedantes. Se trata de agregados de viriones, vesículas membranosas o una combinación de ambos; es característico que presenten redes fibrilares y una alta presencia de gotas lipídicas en sus inmediaciones.

Los criterios taxonómicos para definir los miembros de la familia implican la morfología y tamaño de viriones, la organización del genoma y las estrategias para su expresión, los tipos de inclusiones citoplasmáticas que generan en las células de sus hospedantes, sus mecanismos de transmisión y el tropismo de los tejidos que afectan (por ejemplo, restricción a células del floema).



FOTOS: JAVIER ORDUZ RODRIGUEZ
Y HEBERTH VELÁZQUEZ

Figura 183. Acanaladuras en corteza de cítricos causadas por la infección de *Citrus tristeza virus* (CTV).

Género *Crinivirus*

Los virus de este género poseen dos partículas de 650 a 850 nm y 700 a 900 nm de longitud, con un diámetro de 12 nm. Su genoma está segmentado en dos RNA (con excepción del PYVV que tiene tres partículas e igual número de segmentos de RNA), con tamaños de 7,2 a 8,1 kb (figura 184). El RNA 1 tiene el módulo de replicación, con los ORF 1a, 1b y 2. Los dos primeros codifican para la replicasa y el tercero, ORF 2, para una proteína de 31 kDa con función desconocida. El ORF 1b se produce por un cambio en el marco de lectura +1, que contiene el motivo RdRp. El RNA 2 de algunos crinivirus tiene siete ORF; el 5 corresponde a CP y el 6 a la proteína CPM. El ORF 2 codifica para una proteína HSP70h, en apariencia esencial para el ensamblaje del virión y para su movimiento entre células.

Los crinivirus se pueden encontrar en células del floema y es habitual que su transmisión ocurra por moscas blancas (*Alleyrodididae*) de forma no persistente, sin poderse transmitir de manera mecánica. Los síntomas ocasionados por los virus de este género corresponden a amarillamientos de nervaduras, enanismos y, algunas veces, inducen necrosis. Estos virus pueden causar epidemias severas en los cultivos susceptibles como resultado de su dispersión masiva por el incremento de las poblaciones de sus vectores en el campo.

Uno de los virus de mayor importancia económica del género en las zonas andinas suramericanas es el *Potato yellow vein virus* (PYVV). La enfermedad, causada por PYVV, se reportó por primera vez en cultivos de papa en Antioquia (Colombia) en el año de 1943. El virus se caracteriza por poseer un genoma tripartita, con caperuza en su extremo 5' y una estructura de pseudonudo hacia el extremo 3'.

El RNA 1 posee tres ORF: 1a y 1b contienen los dominios conservados L-PRO, MTR, Hel y RdRp y la pequeña proteína hidrofóbica p7 codificada por el ORF 2. La RdRp se produce por el cambio en el marco de lectura +1, como ha sido demostrado para la familia *Closteroviridae*.

El RNA 2 tiene cinco ORF: HSP70h, p7, p60, p10 y CP. En su orden, la primera proteína es homóloga a la familia de chaperonas HSP70 y está estrechamente relacionada con las HSP70 de otros closterovirus y crinivirus. La proteína se asocia a las partículas virales y es indispensable para el correcto ensamblaje del virión y para el movimiento del virus, como se ha visto en *Beet yellow virus* (BYV) y *Citrus tristeza virus* (CTV). La proteína p7 es muy conservada entre los virus de la familia *Closteroviridae*, aunque se puede ubicar en diferentes sitios en sus genomas; sin embargo, aún no se conoce su función. La p60 se homóloga con otras proteínas de *Closterovirus* y *Crinivirus* (por ejemplo, p64 de BYDV). El ORF 4 codifica para una proteína p10 de función desconocida y, por último, CP es muy similar en su secuencia y tamaño a las de otros crinivirus.

{ 221 }

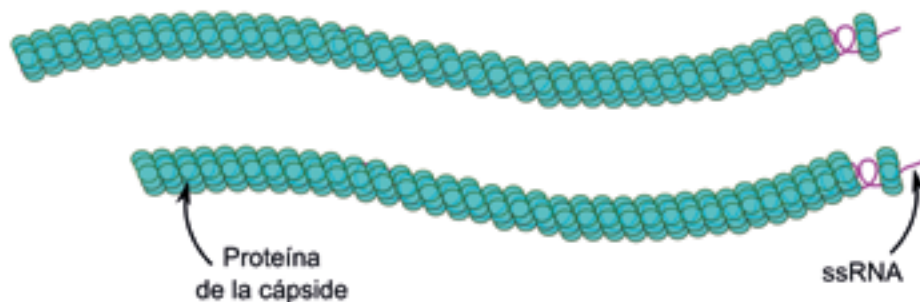


Figura 184. Morfología del virión de un miembro del género *Crinivirus* que consiste en dos varillas flexuosas de 650-850 nm y 700-900 nm de longitud por 10-13 nm de diámetro. Cada partícula tiene una molécula de +ssRNA de 7,2 a 8,1 kb.

Fuente: autores

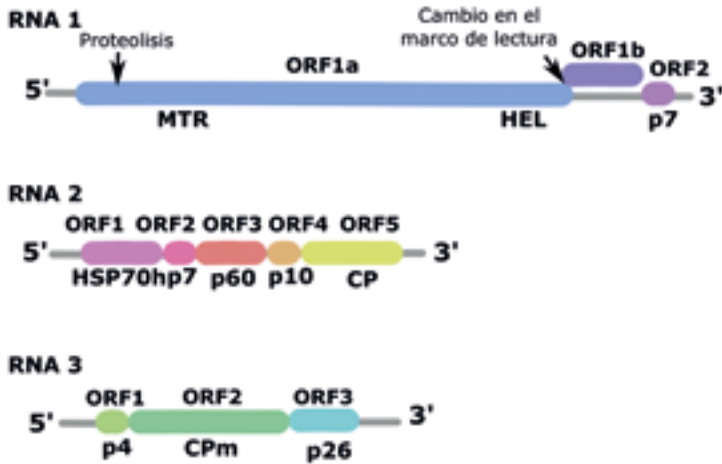


Figura 185. Organización genómica del *Potato yellow vein virus* (PYVV) que contiene tres segmentos de +ssRNA de 8, 5,3 y 3,8 kb y utiliza diversas estrategias de expresión incluyendo genoma multipartita y cambio en el marco de lectura (*frameshift*). Basado en: King et al. 2012

El RNA 3 posee tres ORF: p4, cpm y p26. La primera proteína no posee su contraparte en los otros genomas descritos de la familia *Closteroviridae*, ni homología con ninguna otra secuencia en las bases de datos. El ORF 2 codifica para cpm y el ORF 3 codifica para una proteína con posición y tamaño similar a la descrita para el RNA 2 de *Lettuce infectious yellows virus* (LIYV, *Crinivirus*) y el RNA 2 de *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV, *Crinivirus*). Esta proteína parece ser única para el género *Crinivirus*; sin embargo, guarda una limitada identidad con sus contrapartes del género. Es de destacar que los tres RNA presentes en el virus poseen UTR con secuencias diferentes (figura 185).

El PYVV presenta una baja variación genética entre los aislamientos de Perú y Colombia, regiones geográficas de referencia para este virus, debido a que sus cultivos son los más afectados por la enfermedad. Igualmente, se ha reportado que puede ocasionar pérdidas de hasta el 50 % en los cultivos de papa de dichos países.

Sus síntomas característicos corresponden a amarillamientos de las venas secundarias, acompañados de un color amarillo intenso en la lámina foliar (figura 186). Sin embargo, las nervaduras pueden recuperar el color verde. Mediante infecciones



FOTOS: (a) Carlos Chuquillanqui (b) Heidy Gamarra

Figura 186. Síntomas de amarillamientos de venas causados por *Potato yellow vein virus* (PYVV) en cultivos de papa de los Andes suramericanos.

dirigidas en diferentes solanáceas se ha encontrado que, además de papa, puede infectar al tomate y a algunas plantas arvenses como *Polygonum sp.*, *Tagetes sp.* y *Catharanthus roseus*.





Descripción y manejo de enfermedades virales

En esta sección se presenta la descripción de algunas de las enfermedades de origen viral más limitantes en las regiones tropicales y subtropicales.

En cada uno de los cultivos elegidos como evidencia, se indica la importancia económica mundial del mismo y las principales especies de virus que se han registrado en esas plantas.

Del mismo modo, se exponen las principales prácticas de manejo que se sugieren para el control de algunos virus seleccionados en razón a su importancia económica, características genómicas, sintomatología y mecanismos de transmisión.

Capítulo XVI

Virus del cultivo de maíz (*Zea mays*)

El maíz es el tercer cultivo del mundo por su producción —después del trigo y el arroz— y el primer cereal en rendimiento de grano por hectárea. Es manifiesta su gran importancia económica en el mundo como alimento para humanos, animales domésticos o para diversos productos industriales, incluyendo biocombustibles. Aunque su origen es tropical, se cultiva en un amplio rango de ambientes, desde los 58° de latitud norte en Canadá y en Rusia, hasta los 40° de latitud sur en Argentina y Chile. Se estima que anualmente se producen entre 900 y 1000 millones de toneladas (Mt) de maíz en el mundo; EE. UU. (~345 Mt), China (~225 Mt) y Brasil (~81,5 Mt) son los principales productores.

En maíz se han detectado una gran cantidad de especies de virus que pueden causar enfermedades ya sean de gran importancia económica mundial o que solo afecten cultivos en ciertas regiones. Las virosis se pueden presentar esporádicamente y ocasionar grandes pérdidas o aparecer con frecuencia y tener un efecto menor sobre el rendimiento. En la mayoría de los casos, los virus más limitantes del maíz son transmitidos por insectos saltapuntas y saltahojas, aunque también se presentan algunos de importancia económica que son transmitidos por áfidos, ácaros e incluso coleópteros.

En términos generales, el manejo de las enfermedades en el maíz se fundamenta en la siembra de materiales híbridos tolerantes o resistentes a las especies virales más limitantes en cada zona de cultivo, el control de las poblaciones de vectores con insecticidas sistémicos aplicados directamente a la semilla o al momento de la siembra, la rotación con cultivos de plantas no gramíneas, la selección de épocas de siembra que no favorezcan altas densidades poblacionales de los vectores y la aplicación de herbicidas para la erradicación del pasto Johnson (*Sorghum halepense*) y otras especies de arvenses que sirven de reservorio para muchos de los virus del maíz.

En la actualidad se han reportado cerca de 40 virus que afectan el maíz en el mundo, algunos de los cuales pueden representar variantes de una especie, como es el caso del *Sugarcane mosaic virus*, que tiene múltiples cepas con diferentes niveles de especialización sobre plantas gramíneas. En las regiones tropicales y subtropicales se destaca la presencia de al menos 21 de estos virus; algunos de los más importantes son: *Maize chlorotic mottle virus* (MCMV), *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV), *Maize line virus* (MLV), *Maize mosaic virus* (MMV), *Maize mottle/chlorotic stunt virus* (nombre propuesto), *Maize rayado fino virus* (MRFV), *Maize streak virus* (MSV), *Mal de Río Cuarto virus* (MRCV), *Barley yellow dwarf virus* (BYDV), *Sugarcane mosaic virus* (SCMV) y *Maize stripe virus* (mspV). Cada día se reportan nuevas enfermedades en este hospedante y los rhabdovirus son uno de los grupos que aparentemente requieren mayor estudio en este sentido (figura 187).

Estudios de reconocimiento de enfermedades en Brasil realizados por CNPMS/Embrapa han demostrado que las enfermedades más importantes en este país son la mancha foliar por *phaeosphaeria* (*Phaeosphaeria maydis*), la roya sureña (*Puccinia polysora*), la roya tropical (*Physopella zea*), la roya común (*P. sorghi*), los achaparramientos del maíz (fitoplasma y espiroplasma), y las enfermedades virales causadas por MDMV y MRFV.

Por lo general estas enfermedades virales se presentan en las mismas áreas donde ocurren los problemas de los fitoplasmas y se ha estimado que las pérdidas debidas al MDMV pueden alcanzar hasta el 50% de la producción, con el agravante de que el virus, al ser una variación del *Sugarcane mosaic virus* y tener más de 250 especies de gramíneas como hospedantes alternos, es de difícil manejo en este país, donde confluyen extensas plantaciones de maíz con caña de azúcar, sorgo y arroz, entre otros cultivos.

{ 226 }



FOTOS: (a) Francia Varón (b) Gerardo Martínez

Figura 187. Síntomas de rayados, acortamiento de entrenudos y deformación de espigas en maíz causados por un rhabdovirus cuya especie no se ha identificado y por el *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV).

El MDMV se transmite con facilidad de forma mecánica, así como por más de 20 especies de áfidos de forma no persistente; se incluyen *Rhopalosiphum maidis*, *Schizaphis graminum* y *Myzus persicae*. El MRFV, puede inducir en Brasil pérdidas de entre 30 y 50 %; se transmite por en especial *Dalbulus maidis*, y presenta como hospedantes alternos a diferentes especies de los géneros *Zea*, *Tripsacum* y *Rottboelia*. Además de estos virus, otros reportados en cultivos de maíz de este país suramericano incluyen MMV, *Cucumber mosaic virus* (CMV) y *Maize rough dwarf virus* (MRDV).

Por otra parte, en Venezuela se han identificado al menos cinco virus que afectan el cultivo de maíz: MMV, SCMV, MSPV, MRFV y MDMV. Hace poco, en una parcela experimental ubicada en Villa de Cura (estado Aragua), se observó una enfermedad en apariencia de origen viral, caracterizada por síntomas de mosaicos severos y estrías cloróticas paralelas a las nervaduras en las plantas afectadas. Se comprobó la transmisión mecánica de su agente causal a maíz, sorgo, pasto Johnson y avena. Además, fue transmitido, aunque en una baja proporción, de manera no persistente, de sorgo a sorgo, por los áfidos *Aulacorthum solani* y *Rhopalosiphum maidis* y no se transmitió a través de semillas de sorgo ni de maíz. Evaluaciones serológicas y de microscopía electrónica identificaron al potyvirus *Johnsongrass mosaic virus* (JGMV) como el agente causal de la enfermedad, primer registro de este virus sobre maíz en Venezuela.

Estos virus también se han reportado en Colombia, pero en este caso se han asociado los síntomas de mosaico y enanismo del maíz, no sólo con MDMV, sino con un complejo que además incluye SCMV, JGMV y *Sorghum mosaic virus* (SRMV). Dichos virus inducen también rayados irregulares sobre la lámina foliar y se pueden presentar manchas aceitosas de apariencia anular sobre algunas hojas, además de coloraciones rojizas en las hojas superiores y enanismo general de las plantas. El efecto de estos virus sobre la producción de maíz depende del tiempo en que ocurre su llegada al cultivo, lo que puede afectar el tamaño y número de granos de las mazorcas cuando las infecciones son tempranas.

En Argentina, país subtropical con grandes extensiones de cultivos de maíz, se han señalado como los virus más limitantes el MDMV, MCMV, SCMV, MRFV, *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) y el MRCV; el último es el más limitante en algunas regiones (como Córdoba). Además, se ha registrado la ocurrencia de la necrosis letal del maíz (MNLD, por sus siglas en inglés), una enfermedad causada por la infección conjunta de MCMV y uno de los potyvirus que afecta cereales (como SCMV, *Wheat streak mosaic virus*, WSMV, o MDMV) (figura 188).



Figura 188. Síntomas de rayados y bandeados causados *Wheat streak mosaic virus* (WSMV).

Para el caso de África, las enfermedades virales constituyen uno de los limitantes bióticos más restrictivos de los cultivos de maíz, lo que, sumado a los bajos rendimientos obtenidos en la mayoría de países y al alto consumo per cápita de este cereal —que puede alcanzar hasta 100 kg/año—, representa una grave problemática desde el punto de vista humanitario. En este continente se han detectado los siguientes virus: MSV, *Maize mottle/chlorotic stunt virus*, *Maize eyespot virus* (nombre propuesto), *Guinea grass mosaic virus* (GGMV), *Cynodon chlorotic*

streak virus (nombre propuesto), *Maize yellow stripe virus* (MYSV), *Brome mosaic virus* (BMV), *Barley stripe mosaic virus* (BSMV) y BYDV.

Maize streak virus (MSV)

El msv (Género *Mastrevirus*, Familia *Geminiviridae*) se presenta en todo el continente africano, donde causa la enfermedad viral más importante de este cultivo. La enfermedad fue reportada por primera vez en la región de Natal de Sudáfrica en 1901 y en la actualidad se encuentra virtualmente en todos los países donde se cultiva maíz en África. Causa pérdidas anuales que equivalen del 6 al 10% de la producción, con un valor estimado de entre 120 y 480 millones de dólares/año, aunque para algunas regiones pueden ser mayores.

{ 228 }

La variante más severa de este virus se ha denominado MSV-A, pero además se presentan por lo menos otras diez, designadas como MSV-B a MSV-K, que pueden infectar a la cebada, el trigo, la caña de azúcar y muchas especies perennes de pastos tropicales. Así mismo, se han reportado otras siete especies de mastrevirus, que atacan principalmente pastos perennes, algunos de los cuales también son susceptibles a msv.

El genoma de la variante A es una molécula circular cerrada de ssDNA de aproximadamente 2,7 kb, encapsidada en partículas isométricas geminadas de 22 x 38 nm, consistentes de dos T = 1 incompletas, formadas a partir de proteínas de cápside de 32 kDa (figura 189). La replicación de los geminivirus utiliza un intermediario replicativo de dsDNA que emplea los mecanismos de círculo rodante. El genoma codifica para una proteína rep (*replication-associated protein*) encargada de unirse al sitio de origen de la replicación y resultado de la expresión de dos ORF presentes en la cadena complementaria (C1 y C2). El transcrito C1:C2 contiene un intrón que puede ser procesado por *splicing*, lo que da origen a la proteína rep o repa, respectivamente. Además, el genoma codifica para una proteína de movimiento (MP) y para la cápside viral. MP facilita el movimiento del virus

fuera del núcleo, que es el lugar de su replicación, y hacia células adjuntas, mientras que la CP, además de su función estructural, determina la especificidad del vector, facilita el ingreso del ácido nucleico viral al núcleo y es fundamental para el movimiento sistémico del virus en las plantas.

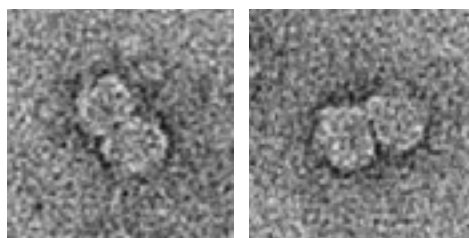


FOTO: Dionne Shepherd

Figura 189. Microfotografías electrónicas de partículas geminadas del *Maize streak virus* (MSV).

El msv lo transmiten de forma circulativa, no propagativa, por lo menos nueve especies de saltahoja del género *Cicadulina*; las más eficientes son *C. mbila* y *C. storeyi*. El período de adquisición del virus para *C. mbila* es de 15-30 segundos y el de latencia de 6-12 horas. El msv persiste en su vector durante toda su vida. La inoculación del virus a nuevas plantas toma cerca de 5 minutos y ocurre cuando el vector deposita saliva dentro de los tejidos del floema mediante su aparato bucal.

Además del maíz, el msv infecta cerca de 80 especies de la familia *Poaceae*, incluyendo arroz, trigo, cebada, mijo, sorgo, y diversos pastos silvestres de los géneros: *Sporobolus*, *Eleusine*, *Paspalum*, *Brachiaria*, *Imperata*, *Rottboelia*, *Dactyloctenium*, *Eragrostis*, *Diplachne*, *Leptochloa*, *Setaria*, *Tragus*, *Euchlanaena* y *Coix*, entre otros.

En las plantas de maíz infectadas con msv, los síntomas de la enfermedad en principio se manifiestan como pequeñas manchas cloróticas en las hojas jóvenes. En los brotes se producen estrías de varios milímetros de longitud y paralelas a las venas. Estas estrías se fusionan lateralmente y da origen a bandeados cloróticos que se pueden extender por toda la lámina foliar. En algunos materiales se produce además pigmentación rojiza. Las plantas se presentan con

reducción en su crecimiento y es frecuente que por efecto del virus no se produzcan mazorcas o granos (figura 190). Algunas cepas agresivas pueden causar la muerte de las plántulas del maíz prematuramente. La epidemiología de msv está gobernada por la influencia del ambiente sobre sus vectores, lo que resulta en eventos epidémicos cada 3 a 10 años, con altos niveles de variación en la incidencia entre cultivos.

foto: Dionne Shepherd



Figura 190. Síntomas causados por *Maize streak virus* (msv) en plantas de maíz (se puede comparar la planta enferma con las sanas en el fondo).

La enfermedad es severa en especial sobre cultivos de híbridos de períodos cortos, debido a que se siembra con mucha densidad, lo que contribuye a la proliferación de los vectores y, por ende, a la transmisión del virus. Además, el ciclo corto del cultivo no permite la recuperación de las plantas, fenómeno frecuente en muchas enfermedades virales, lo que, sumado al establecimiento continuo de monocultivos, termina por configurar las epidemias del msv.

El control del msv se fundamenta en la selección de épocas de siembra que no favorezcan las poblaciones masivas del vector, la utilización de insecticidas en

aplicaciones directas a los surcos de cultivo o como recubrimiento de las semillas, y el desarrollo de cultivares resistentes a la enfermedad, gracias a que algunas líneas de maíz han demostrado tolerancia a la enfermedad (como *Tropical Zea Yellow* [TZ-Y] y *Peruvian Yellow*).

Mal de Río Cuarto virus (MRCV)

El *Mal de Río Cuarto* es la enfermedad más importante del cultivo de maíz en Argentina; tiene carácter endémico en la Provincia de Córdoba, donde por primera vez se detectó a finales de la década de 1960, aunque en la actualidad se registra en prácticamente todo el país.

El MRCV es un miembro del género *Fijivirus* de la familia *Reoviridae*. Sus viriones tienen morfología icosaédrica de aproximadamente 70 nm de diámetro y contienen 10 segmentos de dsRNA. Se transmite de forma persistente propagativa por vectores delfácidos como *Delphacodes kuscheli*, *D. tigrinus* y *D. haywardii* (figura 191). A modo experimental, se ha encontrado que, en sus vectores, los períodos de adquisición, latencia e inoculación de MRCV son de dos, diez y un día, respectivamente. { 229 }

El MRCV infecta numerosas especies de la familia *Poaceae* como maíz, trigo, avena, cebada, sorgo, centeno y triticale. Los síntomas aparecen generalmente luego de 4 a 5 semanas de cultivo. Se presenta

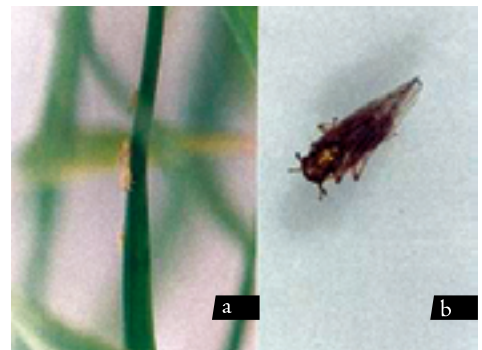


Figura 191. a. Ninfas de tercer estadio; b. adulto de *Delphacodes kuscheli*, vector del *Mal de Río Cuarto virus* (MRCV).

FOTOS: Graciela Truol

un achaparramiento, que a veces termina en un grado severo de enanismo. Lo común es observar deformación general de la planta, los tallos suelen achatarse y se produce acortamiento de entrenudos. En las láminas foliares, los márgenes presentan cortes transversales y las hojas superiores pueden casi desaparecer y quedar reducidas a la vaina. En el envés, las nervaduras se engrosan (enaciones), síntoma característico inducido por diferentes fijivirus.

Las enaciones se pueden encontrar también en las brácteas de las espigas y en las vainas foliares, lo que induce al enrollamiento foliar (figura 192). Las mazorcas proliferan, se reduce su tamaño, se deforman y, con frecuencia, no forman granos o estos son muy escasos. En infecciones severas, el virus causa además la esterilidad masculina de las plantas.



Figura 192. Síntomas de enrollamiento foliar con bordes de hoja cortados, bandas cloróticas paralelas al margen y enaciones de nervaduras causadas por *Mal de Río Cuarto virus* (MRCV) en trigo.

Para el manejo del MRCV se propone la siembra temprana de los cultivos para evitar la coincidencia con los picos poblacionales de los vectores; el empleo de híbridos tolerantes, y los tratamientos con insecticidas sistémicos (por ejemplo, carbofurano, imidacloprid) a las semillas para proteger a las plántulas de maíz en las primeras etapas de su crecimiento, ya que este es el período de mayor susceptibilidad. Para Argentina, el MRCV es uno de los principales problemas fitosanitarios; para los demás países, en especial para aquellos limítrofes con zonas cultivadoras de gramíneas de ese país (como Bolivia, Paraguay y Brasil), el MRCV representa un riesgo cuarentenario mayor.

Maize rayado fino virus (MRFV)

Entre las principales enfermedades del cultivo del maíz en Centroamérica y México se destaca el MRFV. Este virus es hasta el momento uno de los únicos de este cultivo cuyo origen corresponde al continente americano; se propuso, a partir de análisis filogenéticos, que procede de una región entre Guatemala y México, aunque su dispersión a otros países ha representado el surgimiento de diferentes linajes genéticos, que pueden diferir hasta en un 12% en las secuencias de su gen CP. Entre otros países, se ha registrado en Argentina, Brasil, Colombia, Ecuador, Costa Rica, México, Perú, Venezuela y en el Sur de los Estados Unidos. En Colombia se detectó por primera vez en 1973, en la sabana de Bogotá, y actualmente se presenta en todo el país. Se calcula que su efecto sobre la producción puede ser hasta de un 50%.

En un estudio realizado con ocho cultivares de maíz en Chapingo (México), en el que se compararon los rendimientos y diferentes aspectos fisiológicos de plantas de maíz en presencia de poblaciones virulíferas de su vector (*Dalbulus maidis*) contra lotes sin presencia de este insecto, se encontró que en promedio, en los cultivares infectados, la altura de las plantas disminuyó en 22%, la densidad de grano en 27%, el índice de cosecha (peso de materia seca del grano/peso materia seca de la planta) en 71%, el número de mazorcas en 37% y el rendimiento en un 78%, lo que representa un claro ejemplo de los graves efectos del ataque de este virus y su vector a los cultivos de maíz del continente americano.

El MRFV y su vector *D. maidis* ocurren en un amplio rango ecológico que se extiende desde el nivel del mar hasta cerca de 3000 m s.n.m. Se ha demostrado, con base en análisis de secuencias de CP y de la región 3'-UTR, que los virus denominados como *Brazilian corn streak virus* y *Maize rayado colombiano virus* corresponden a variantes del MRFV.

El MRFV es la especie tipo del género *Marafivirus* de la familia *Tymoviridae*. Sus viriones son partículas isométricas de 30 nm de diámetro, con un genoma de +ssRNA monopartita de cerca de 7 kb. Aunque se suponía que el virus carecía de cola de Poli-A en el extremo 3' de su genoma, recientemente se ha detectado que es poliadenilado con entre 19 y 22 residuos, por lo que es posible que este extremo sea muy susceptible a la degradación durante los procesos experimentales con el virus. La cápside viral presenta dos proteínas serológicamente relacionadas de 22 y 28 kDa.

Los síntomas ocasionados por el MRFV en maíz se caracterizan, al inicio, por la ocurrencia de puntos cloróticos ubicados paralelamente a la nervadura central y en la base de las hojas jóvenes; se pueden presentar de tres a cuatro días después de la inoculación. Con el avance de la infección, los puntos se unen y originan un rayado muy fino que puede llegar a cubrir toda la lámina foliar. En cultivares muy susceptibles, hay necrosis de células con ruptura de la lámina foliar, acompañada, en algunas ocasiones, del marchitamiento de las plantas; sin embargo, si la infección ocurre después de floración, los síntomas son casi imperceptibles en las plantas (figura 193).

Tal como se indicó, el MRFV es transmitido de forma persistente propagativa por saltahojas del género *Dalbulus*; *D. maidis* es su principal vector. El período promedio de incubación que requiere el virus en su vector oscila entre 12,5 y 16 días. Es frecuente encontrar que el MRFV se presente en infecciones asociadas con mollicutes como el *Corn stunt spiroplasma* y *Maize bushy stunt phytoplasma*, ya que estas son transmitidas por el mismo insecto. Estudios experimentales han señalado que el virus no se transmite ni mecánicamente, ni por semilla sexual o polen de maíz. Se han registrado como plantas hospedantes del MRFV a *Zea luxurians*, *Z. diploperennis*, *Trisacum australe*, y *Rottboelia exaltata*.

El manejo de la enfermedad se fundamenta en la realización de programas de rotación de cultivos



FOTO: Francisco Morales

Figura 193. Síntomas causados por *Maize rayado fino virus* (MRFV) en tejido foliar de maíz.

con plantas como frijol y arveja, siembra de cultivos mixtos con especies no hospedantes del virus ni de su vector, y cultivo en épocas que no favorezcan el desarrollo poblacional de *D. maidis*. En adición, se ha encontrado que la variedad guatemalteca es una fuente de tolerancia al MRFV con potencial para mejoramiento genético.

{ 231 }

Maize mosaic virus (MMV) y Maize stripe virus (MSPV)

MMV y MSPV causan enfermedades en los cultivos de maíz de las regiones tropicales y subtropicales de América, África y Australia. El MMV fue inicialmente detectado en Hawái en 1914, mientras que el MSPV se registró por primera vez en 1936 en África.

Por lo común, estos virus causan infecciones conjuntas, ya que son transmitidos por el mismo vector, el delfácido *Peregrinus maidis*. Ambos virus se propagan en el insecto, pero solo MSPV puede pasar de forma transovárica a la progenie. El maíz es el principal hospedante del complejo *P. maidis*-MSPV-MMV, aunque se ha encontrado que varias especies del género *Sorghum* y algunos pastos silvestres pueden también ser infectados.

mspv es un miembro del género *Tenuivirus*, del que también hacen parte el *Rice stripe virus* (RSV) y *Rice hoja blanca virus* (RHBV), entre otros. Sus viriones son filamentosos de 3-5 nm de diámetro, con cinco moléculas de ssRNA con polaridad negativa o ambisentido y tamaños de 9 kb (RNA 1, negativo), 3,3 kb (RNA 2, ambisentido), 2,3 kb (RNA 3, ambisentido), 2,2 kb (RNA 4, ambisentido) y 1,3 kb (RNA 5, negativo). Las proteínas de la nucleocápside (34-35 kDa) se encuentran abundantemente en las células del tejido foliar de las plantas infectadas.

Por su parte, el MMV es un miembro del género *Nucleorhabdovirus* de la familia *Rhabdoviridae*. Estos virus se caracterizan por su replicación en el núcleo de las células vegetales que da origen a la formación de grandes inclusiones granulares. Los viriones tienen forma bacilar con tamaños de 200 x 70 nm, aunque dichas dimensiones son muy variables, reportándose aislamientos de Hawái con tamaños de hasta 245 x 80 nm. Su genoma consiste de una molécula de -ssRNA de 12 kb, con una organización del tipo 3'-N-P-SC4-M-G-L-5', es decir, codifica para cinco proteínas estructurales que cumplen con las funciones de transcripción y replicación (L), peplómeros de la superficie viral (G), componente principal del nucleocápside (N), cofactor de la polimerasa viral (P) y componente interno del virión que regula la transcripción del RNA (M). También, el ORF SC4 está relacionado con el movimiento célula a célula del virus.

Los primeros síntomas que causa el MMV se caracterizan por la presencia de rayas cloróticas o amarillas en las hojas jóvenes, paralelas a la nervadura central,

que al avanzar se pueden llegar a distribuir en toda la lámina foliar. A pesar del nombre del virus, este no induce mosaicos. En las plantas infectadas, los primeros estados de su desarrollo presentan acortamiento severo de entrenudos, enanismo, pérdida de vigor y, con frecuencia, el cogollo se dobla (figura 194). Cuando el acortamiento de entrenudos es muy severo, todas las hojas emergen de un mismo vértice y dan la apariencia de roseta. Algunas plantas pueden morir prematuramente y las que sobreviven no producen mazorcas.

Para el caso del mspv, los síntomas iniciales se presentan como puntos cloróticos o rayas muy finas en la base de las hojas jóvenes. Luego, las lesiones se unen y llegan a cubrir toda la lámina foliar, que se torna clorótica, blanca o presenta bandas amarillas que alternan con zonas verdes y claras. Las plantas muestran enanismo, entrenudos muy cortos y cuando la infección ocurre en estado de plántula, el cogollo se dobla debido a que la mayoría de las hojas salen muy juntas por el acortamiento de los entrenudos. Algunas veces se presenta marchitamiento y las plantas mueren prematuramente. Plantas muy afectadas no producen mazorcas y, si se forman, tiene muy pocos granos. La infección mixta de MMV y mspv induce síndromes complejos que incluyen varios de los síntomas antes descritos.

El manejo de estos virus se fundamenta en la utilización de insecticidas sistémicos dirigidos a su vector, así como la siembra de variedades resistentes, como aquellas derivadas de la línea HI40 altamente resistente a MMV y Rev81 resistente a mspv.

{ 232 }





FOTOS: (a y b) Francia Varón (c y d) Clesson Higashi (e y f) Lucy R. Stewart

{ 233 }

Figura 194. a. Síntomas de rayados foliares paralelos a los haces vasculares; b. Apariencia de roseta de planta de maíz, como resultado de la infección por un nucleorhabdovirus serológicamente relacionado con *Maize mosaic virus* (MMV); c. Delfácidos transmisores de MMV; d. Enanismo severo causado por infección de MMV en plantas de maíz; e-f. Síntomas de rayados causados por *Maize stripe virus* (MSPV) en maíz.



Virus del cultivo de cacao (*Theobroma cacao*)

El cacao es una planta originaria de la ribera del río Amazonas, específicamente de la región oriental de Ecuador y de Perú. Existen registros arqueológicos de su utilización como fuente de chocolate en Centroamérica desde hace 2.600 años.

Taxonómicamente, *T. cacao* pertenece a la familia *Malvaceae*, aunque por muchos años se ubicó en *Sterculiaceae*. El cacao se cultiva en las regiones húmedas y bajas de la región tropical; se producen cerca de 4 millones de toneladas métricas por año. Se estima que la industria del chocolate tiene un valor global cercano a los 80 billones de dólares, lo cual reafirma la gran importancia que representa este cultivo tanto para países productores como transformadores de chocolate.

A pesar del origen del cacao en el hemisferio occidental, en esta región solo se produce el 14 % del total mundial de este grano, mientras que el 18 % proviene de Asia y Oceanía, y el 68 % de África. Los mayores productores de cacao en el mundo son: Costa de Marfil (33,9 %), Ghana (18,8 %), Indonesia (15,5 %) y Nigeria (9,3 %). En América, se destacan Brasil (214.774 t), seguido de Ecuador (137.000 t), Colombia (55.298 t) y México (48.405 t).

Las enfermedades tienen un gran impacto sobre la producción de cacao, pues provocan pérdidas globales estimadas en cerca del 20 % de la producción, aunque dichos valores pueden ser mayores en regiones donde se presentan algunos de los patógenos más limitantes del cultivo como la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) y la escoba de bruja (*M. perniciosa*, antes *Crinipellis perniciosa*). Estas dos enfermedades solo se presentan en el hemisferio occidental, mientras que en el oriental las más importantes son el hinchazón de los brotes causado por *Cacao swollen shoot virus* (cssv) y la mazorca negra por *Phytophthora megakarya*. Esta última también se presenta en América, pero en este continente sus agentes causales son *P. palmivora*, *P. capsici* y *P. citrophthora*. Por otra parte, en los últimos años ha venido cobrando importancia en países como Brasil, Ecuador y Colombia la marchitez del cacao causada por *Ceratocystis cacaofunesta* (antes *C. fimbriata*).

Cacao swollen shoot virus (cssv)

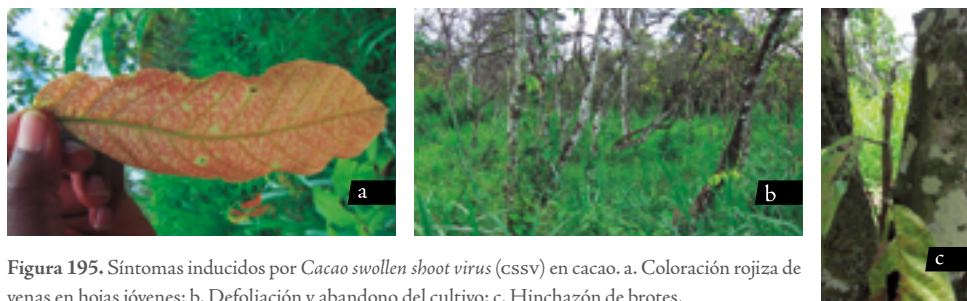
La enfermedad de la hinchazón de los brotes causada por cssv está circunscrita al hemisferio oriental. Inicialmente fue descrita en 1936 en Ghana, donde se calcula que cerca de 200 millones de árboles han muerto por su causa. En la actualidad este virus se registra en prácticamente todos los países africanos que cultivan cacao, así como en algunos de Asia como Indonesia, Sri Lanka, Malasia, y en Oceanía (Papúa Nueva Guinea).

Se estima que el cssv provoca pérdidas anuales cercanas a 50.000 t de cacao. Así, por ejemplo, solo en Ghana, entre los años 2006 y 2010, se erradicaron 28.486.309 árboles de cacao con síntomas de la enfermedad, en un esfuerzo de ese país por detener la epidemia.

cssv es un miembro del género *Badnavirus* (familia *Caulimoviridae*) que presenta gran nivel de variación genética (hasta 29% entre aislamientos) y, por ende, induce un amplio rango de síntomas. Entre ellos se destacan clorosis de hojas y mazorcas, coloración rojiza de venas en hojas jóvenes, bandeamiento de venas en hojas viejas, desarrollo deficiente de raíces, deformación de mazorcas (algunas veces acompañadas de moteados de color verde), enanismos de plantas y, finalmente, hinchamiento de raíces, tallos y brotes; este último síntoma le da el nombre a la enfermedad (figura 195). Cuando se presentan variantes virales agresivas como Agou1 (Togo) o New Juaben (Ghana) sobre genotipos susceptibles de cacao, el virus induce la defoliación de las plantas y su muerte.

caja TATA (CTATAAATG entre nt 6961–6969) y una señal para poli-A (GAAATAAA) entre los nt 7066 y 7073.

cssv se transmite fundamentalmente a través de material de propagación de cacao y puede sobrevivir en esquejes hasta por 20 meses en forma latente. También lo hace de manera semipersistente por vectores de al menos 14 especies de cochinillas o escamas (*Pseudococcidae*) de los géneros *Planococcus*, *Planococcoides*, *Pseudococcus*, *Dysmicoccus* y *Ferrisia*. El virus no se transmite mecánicamente y por mucho tiempo se pensó que tampoco por semilla; sin embargo, en 2008, en un trabajo en que se utilizó PCR con cebadores específicos para regiones conservadas del



FOTOS: Christian Cilas

{ 236 }

Los viriones del cssv son partículas baciliformes de 121-130 por 28 nm, con genoma de dsDNA de cerca de 7-7,3 kpb con cinco ORF. El ORF 1 codifica para una proteína de 16,7 kDa con función desconocida, mientras que el ORF 2 lo hace para una proteína de unión a ácidos nucleicos. El ORF 3 codifica para una poliproteína de 211 kDa que contiene motivos para proteína de movimiento, cápside, una aspartil-proteasa, reverso-transcriptasa (RT) y ribonucleasa H (RNasa H). Los dos últimos ORF: X (13 kDa) y Y (14 kDa) se presentan traslapados con el ORF 3 y codifican para proteínas con función desconocida. En análisis filogenéticos se ha encontrado que el ORF X difiere en gran medida en su tamaño y secuencia entre aislamientos de cssv de Togo y otros países de África, por lo que no existe claridad sobre la función de su proteína putativa. Los genomas de diferentes aislamientos de cssv tienen un %G+C de 43,5 a 44,3%, con una región intergénica que presenta una

genoma de cssv, se encontró que posiblemente este virus tiene una alta tasa de transmisión vía semilla sexual en cacao. Su rango de hospedantes incluyen cerca de 40 especies vegetales de la familia *Malvaceae*, como *Adansonia* sp. (árbol baobab), *Ceiba pentandra* (árbol kapok) y *Cola* sp. (árbol cola).

El origen del virus es incierto, aunque se plantea que pudiera estar presente en plantas nativas de África occidental antes de la introducción del cacao a esta región. El manejo de la enfermedad depende de su detección prematura en el material de siembra, lo cual no es siempre fácil de lograr debido a que la gran variación de sus genotipos dificultan la efectividad de pruebas que utilizan anticuerpos o *primers* universales. Para concluir, es importante indicar que las plantas afectadas por cssv se ven predispuestas al ataque por *Phytophthora* sp. y *Albionectria rigidiuscula* (antes *Calonectria*).





Virus del cultivo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*)

El cultivo de la caña de azúcar es uno de los más extensos en el mundo, con cerca de 26 millones de hectáreas distribuidas en cerca de 90 países, ubicados en la franja comprendida entre los 35° N y S, y una producción global de 1,83 billones de toneladas.

Brasil es el principal productor de caña de azúcar con cerca de 734 millones de toneladas, seguido por India y China con 342 y 115 Mt, respectivamente. Otros países productores son Tailandia, Pakistán, México, Colombia, Filipinas y Australia. El promedio de producción mundial de caña es de 70,7 t/ha, con contenidos de 12-16 % de azúcares solubles, 11-16 % de fibra, 2-3 % de azúcares no solubles y 63-73 % de agua.

La demanda mundial de azúcar proviene en 80 % de la caña y el resto de remolacha azucarera, cultivada en la región templada. Sin embargo, en los últimos años la caña se ha utilizado como fuente importante de etanol para su utilización como biocombustible; Brasil ha sido el pionero en la realización de mezclas de gasolina con hasta 22 % de bioetanol. Allí se estima que una hectárea de caña de azúcar produce cerca de 4.000 l de etanol/año.

Existen cerca de 37 especies del género *Saccharum*, pero aproximadamente el 70 % de los cultivos corresponde a la especie *S. officinarum* y a híbridos derivados de ella. El centro de origen de la caña de azúcar se ubica entre el sur y el sudeste asiático; *S. barberi* procede de India, y *S. edule* y *S. officinarum* de Papúa Nueva Guinea.

Las enfermedades de la caña de azúcar son uno de los limitantes más importantes para la producción de ese cultivo y causan grandes pérdidas económicas en el mundo entero, así como abandono de tierras productivas y cierre de plantas de procesamiento. Las grandes extensiones que requiere la agroindustria de la caña de azúcar para generar ganancias, hacen del uso intensivo de control químico de plagas y enfermedades una labor poco eficiente. Por ello, la integración de diferentes prácticas de manejo como la siembra de material certificado, el tratamiento térmico/químico de la semilla asexual, el control biológico de insectos plagas y, sobre todo, la siembra de variedades mejoradas por resistencia a patógenos y plagas es fundamental.

En tal sentido, la industria de caña de azúcar ha sido bastante exitosa en la generación de híbridos interespecíficos. Así, por ejemplo, Colombia estableció un centro de investigación de caña de azúcar (Cenicaña) desde 1977, con un componente importante en el programa de variedades, cuyos materiales mejorados denominados cc (por ejemplo, cc 85-92), han venido sustituyendo las variedades tradicionalmente cultivadas en el país (como POJ2878, CP 57-603 y MZC 74-275). En la actualidad este programa adoptó el sistema de *agricultura específica por sitio* (AEPS), para el proceso de obtención y desarrollo de nuevas variedades; se identificaron 149 zona agroecológicas en las 216.764 ha cultivadas con caña en el Valle geográfico del río Cauca de este país suramericano.

Como la caña se propaga vegetativamente a través de porciones de tallo, la dispersión de virus por este medio es muy eficiente. Esto, sumado a su condición de planta semipermanente que favorece el aumento del título viral de soca en soca y al gran intercambio de materiales parentales y variedades entre países productores

de caña para sus programas de mejoramiento genético, explica el porqué de la gran importancia que tienen los virus para la agroindustria en cuestión.

El desarrollo de sistemas de detección viral asintomático ha sido una estrategia fundamental, adelantada por los productores de caña de azúcar en diferentes países del mundo; esta agroindustria es pionera en el empleo de técnicas como *dot-blot* y *tissue-blot* y RT-PCR múltiple para la detección de virus.

Diferentes enfermedades han alcanzado proporciones epidémicas en cultivos de caña de azúcar en el mundo. Desde 1890 el mosaico de la caña de azúcar fue reportado en Indonesia y distribuido por todas partes debido al movimiento de material de siembra, lo que causó, por ejemplo, la devastación de la industria de azúcar en Luisiana (EE. UU.) en 1920 y en Puerto Rico, tiempo después. Por fortuna, el control de estas epidemias se ha logrado mediante la siembra de materiales resistentes. Hasta el momento se han reportado por lo menos ocho virus que afectan la caña de azúcar en el mundo: *Sugarcane mosaic virus* (SCMV), *Sorghum mosaic virus* (SRMV), *Sugarcane streak mosaic virus* (SCSMV), *Sugarcane yellow leaf virus* (SCYLV), *Sugarcane Fiji disease virus* (SFDV), *Sugarcane streak virus* (SSV) y *Sugarcane bacilliform virus* (SCBV). Las enfermedades virales más limitantes del cultivo son el mosaico de la caña de azúcar y la enfermedad de la hoja amarilla, causadas por un complejo de potyvirus (SCMV, SRMV y SCSMV, entre ellos) y por el polerovirus SCYLV, respectivamente (figura 196).

Sugarcane mosaic virus (SCMV)

El mosaico de la caña de azúcar fue inicialmente atribuido a una especie de potyvirus (SCMV) que presentaba múltiples variantes; sin embargo, estudios recientes de secuenciación han demostrado que esta enfermedad la causa un complejo de potyvirus que hace parte del subgrupo filogenético denominado SCMV. Este clado incluye *srmv*, *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV), *Johnsongrass mosaic virus* (JGMV), *Zea mosaic virus* (ZEMV), *Cocksfoot streak virus* (CSV), *Pennisetum mosaic virus* (PENMV) y, por supuesto, a SCMV.

Con base en análisis de secuencias del genoma completo, se ha sugerido que el *Sugarcane streak mosaic virus* (SCSMV), otro virus asociado a esta enfermedad, representa una nueva especie del género propuesto *Susmovirus* de la familia *Potyviridae*. De los descritos, solo SCMV, SCSMV y SRMV pueden infectar naturalmente caña de azúcar; SCMV se distribuye en el mundo entero, mientras que SRMV se ha encontrado principalmente en Estados Unidos, China y Vietnam, y SCSMV está hasta ahora restringido a Paquistán, India, Bangladesh, Sri Lanka, Tailandia y Vietnam.

Las partículas virales de estos potyvirus presentan morfología de varillas flexibles de 650 a 900 nm de longitud y 11-13 nm de diámetro; son específicamente de 750 nm para el SCMV y de 890 nm para SCSMV. Los genomas son de +ssRNA de aproximadamente 10 kb. El genoma de SCMV es poliadenilado y presenta

{ 240 }



FOTO: Marcos C. Gonçalves

Figura 196. Vista general de un cultivo de caña de azúcar de la variedad SP71-6163 susceptible al *Sugarcane yellow leaf virus* (SCYLV). Las plantas tienen síntomas severos de amarillamientos y necrosis, en comparación con materiales tolerantes asintomáticos.

una proteína vpg unida covalentemente al extremo 5', rodeado por cerca de 2000 unidades de unidades de cp. Estos virus por lo general inducen la presencia de inclusiones citoplasmáticas de diferentes tipos incluyendo ruedas de carreta (*pinwheels*), agregados laminares (*lamine aggregates*) y pergaminos (*scrolls*) (figura 197).

Estos virus inducen varios tipos de síntomas en caña de azúcar: rayados cloróticos y amarillamientos/ aclaramientos en diferentes partes de las hojas (nervadura

central, puntas de las hojas). La infección también se puede manifestar por diferentes grados de coloraciones rojizas o incluso necrosis en las hojas (figura 198), sin embargo, existe una gran variación en los síntomas inducidos por dichos virus sobre diferentes variedades de caña, por lo que es virtualmente imposible la identificación de su agente causal específico solo con base en este aspecto.

SCMV y SRMV se transmiten mecánicamente, por propagación vegetativa y por áfidos de manera no persistente, de las especies *Dactynotus ambrosiae*, *Hysteroneura setariae*, *Rhopalosiphum maidis* y *Toxoptera graminum*, entre otros. Por otra parte, los estudios realizados hasta el momento no han permitido confirmar la transmisión del scsmv por áfidos, aunque en algunos reportes se presume que algunos ácaros de la familia *Eriophyidae* podrían actuar como sus vectores en la India. Por lo general, el rango de hospedantes de SCMV y SRMV incluye, además de diferentes malezas de la familia *Poaceae*, los cultivos de maíz y sorgo, donde pueden también a ser económicamente importantes en algunas regiones.

{ 241 }

El uso de variedades resistentes a estos virus es el método más efectivo para el control del mosaico de la

Foto: Marcos C. Gonçalves

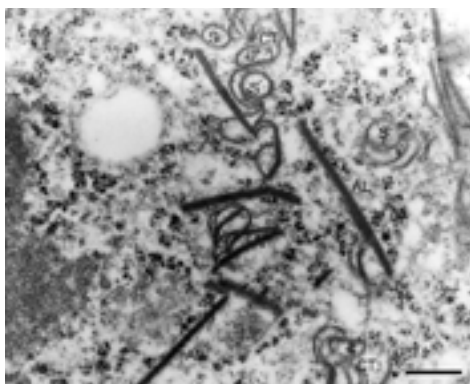


Figura 197. Microscopía electrónica de transmisión de cortes de hoja de caña de azúcar infectadas por *Sugarcane mosaic virus* (SCMV). Muestra inclusiones citoplasmáticas tipo ruedas de carreta (CT-pinwheels), agregados laminares (AL-lamine aggregates) y pergaminos (S-Scrolls).

FOTOS: Marcos C. Gonçalves



Figura 198. a. Plantas de caña de azúcar que muestran síntomas típicos de mosaico (rayados cloróticos); b. necrosis en hojas de una planta indicadora de sorgo (*Sorghum bicolor* 'TX2786') inoculada con *Sugarcane mosaic virus* (SCMV).

caña de azúcar. Por ello, la evaluación periódica de las variedades frente a diferentes cepas de estas especies virales es necesaria para prevenir eventos epidémicos, como los ocurridos hacia las décadas de 1920 y 1930 en países como Brasil, Argentina y Colombia.

En este último, el mosaico de la caña de azúcar fue detectado en 1933 en variedades nativas altamente susceptibles ubicadas en las riberas del río Cauca y en Antioquia. Esta situación condujo al reemplazo de dichas variedades por la POJ 2878 resistente a la enfermedad. Sin embargo, el mosaico reapareció con la siembra de la variedad CP 57-603 en 1974; las pérdidas en 1978 se estimaron en un 15 %, en promedio, en el Valle del Cauca. Para el caso de producción de panela, la variedad CP 57-603 es altamente susceptible al mosaico, mientras que POJ 28-78, POJ 27-14, CO 419, CO 421 y PR 61-632, son resistentes.

El principal vector de este virus en Colombia es el áfido *Rhopalosiphum maidis*, que también utiliza al maíz y sorgo como hospedantes alternos. También, se ha encontrado que *Hysteroneura sacchari*, cuyo hospedante primario es el pasto Argentina (*Cynodon dactylon*) también transmite el virus, aunque con menor eficiencia que *R. maidis*.

Sugarcane yellow leaf virus (SCYLV)

SCYLV es el agente causal de la hoja amarilla de la caña de azúcar, una enfermedad hasta hace poco denominada síndrome de la hoja amarilla —o YLS por sus siglas en inglés (*Yellow leaf syndrome*)—, ya que inicialmente estaba asociada con un complejo viral y de fitoplasmas. En la actualidad se prefiere denominar a la enfermedad causada por fitoplasmas (*Sugarcane yellow leaf phytoplasma*, SCYLP o *Candidatus Phytoplasma graminis*) como amarillamientos (*leaf yellows*) y a la enfermedad viral como amarillamiento (*leaf yellow*).

La enfermedad fue registrada por primera vez en Hawái en 1989 sobre la variedad H65-7052, y en 1991 en Brasil sobre SP 71-6163. Luego, en 1994, se detectó

en los Estados Unidos (Florida, Luisiana y Texas), y en 1998, en Colombia, sobre un lote de la variedad SP 71-6163 introducido de Brasil en 1987. En la actualidad, se ha registrado en cerca de 30 países productores de caña de azúcar, entre los que están Australia, Islas Mauricio, Isla Reunión, Sudáfrica, Venezuela, Ecuador, Nicaragua y El Salvador, entre otros.

SCYLV ha sido recientemente asignado al género *Polevirus* de la familia *Luteoviridae*. Sus viriones tienen forma isométrica de 30 nm de diámetro (figura 199), con un genoma de +ssRNA de 5,9 kb que contiene seis ORF (0 a 5). Para el ORF 0 no se conoce su producto hasta el momento, mientras que el ORF 1 codifica para una proteasa, el ORF 2 para la RdRp que se traduce por cambio en el marco de lectura -1 y para una VPg que se une al extremo 5' del genoma viral. Los ORF 3, 4 y 5 codifican para proteínas estructurales que incluyen la cápside mayor (ORF 3), y los dos primeros son traducidos vía sgrNA. En apariencia, el genoma de este virus presenta múltiples eventos de recombinación; los ORF 1 y 2 se relacionan con sus contrapartes de polerovirus, mientras que los ORF 3 y 4 con genomas de luteovirus y el ORF 5 con un gen que codifica para una proteína de lectura continua en enamovirus.

Estudios de variabilidad genética han demostrado que el SCYLV es un virus variable y se identifican, con base en secuencias completas de su genoma,

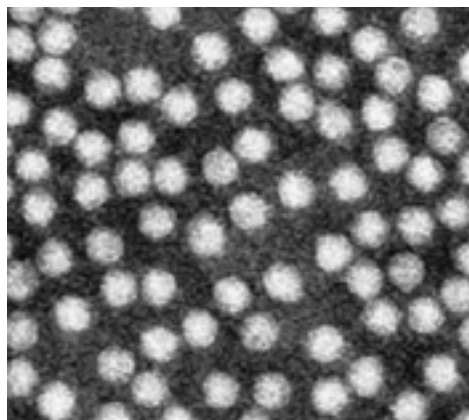


Figura 199. Microscopía electrónica de transmisión que muestra partículas isométricas de 30 nm de *Sugarcane yellow leaf virus* (SCYLV).

FOTO: Marcos C. Gonçalves

al menos tres genotipos con diferentes orígenes geográficos (Brasil, Perú, y Reunión). Los porcentajes de identidad entre dichos genotipos varían del 94 % al 98 %, aunque con base en secuencias del ORF 1 se ha determinado que un aislamiento obtenido en Cuba solo presentó 77 % a 80 % de identidad con respecto a tales genotipos. Un estudio tendiente a evaluar la diversidad genotípica de aislamientos de SCYLV colectados en Norte, Sur y Centroamérica mediante secuenciación identificó a la población del virus presente en Colombia como la más ancestral, por lo que se plantea que en este país suramericano es posible que se encuentren los genotipos virales iniciales de los aislamientos de SCYLV actualmente registrados en el continente americano.

Los síntomas causados por el virus se caracterizan primero por el amarillamiento de las hojas con tonalidades brillantes en la nervadura central, en especial en el envés. Este cambio de coloración avanza hasta extenderse a toda la lámina foliar y se acompaña de un acortamiento de los entrenudos y necrosis del ápice foliar. Cuando la enfermedad es severa, las hojas se tornan de colores rojizos en el haz, en especial en cercanías a la nervadura central y se presenta una reducción en el contenido de sacarosa en los tallos, que se acumula en las nervaduras foliares (figura 200). Esta situación plantea que la enfermedad afecta la translocación de azúcares a través del floema de las hojas. Los síntomas son más pronunciados cuando las plantas presentan estrés abiótico, sobre todo, déficit hídrico, lo que hace difícil estimar las pérdidas causadas por el virus, aunque

existen reportes de reducciones en el rendimiento en suertes de caña de azúcar de hasta el 50 %.

El SCYLV reside en el tejido del floema de las plantas y, por tanto, se transmite durante el proceso de propagación vegetativa de la caña de azúcar. En forma natural se transmite por más de diez especies de áfidos en forma persistente pero no propagativa, entre ellos *Melanaphis sacchari*, *Rhopalosiphum maidis*, *Ceratovacuna lanigera* y *R. rufiabdominalis*. Dada la ubicación en el floema de las plantas, la detección del SCYLV se debe realizar con métodos serológicos y moleculares altamente sensibles como el TBIA (*tissue blot immunoassay*, TBIA), ELISA indirecto con antisueros específicos y RT-PCR con cebadores como FM359-FM323, que amplifican un fragmento de 1200 pb.

El manejo de esta enfermedad se fundamenta en la obtención de plantas madre libres de virus, producidas mediante cultivo de meristemos; en el manejo de las poblaciones de áfidos vectores, y, sobre todo, en la siembra de variedades tolerantes/resistentes al virus. Este último aspecto es, en la actualidad, uno de los factores fundamentales para la liberación de nuevas variedades de caña en diferentes países del mundo.

{ 243 }

Fiji disease virus (FDV)

FDV es la especie tipo del género *Fijivirus* (*Reoviridae*). Sus viriones consisten de partículas sin envoltura externa con una doble cápside. La externa presenta

FOTOS: Marcos C. Gonçalves

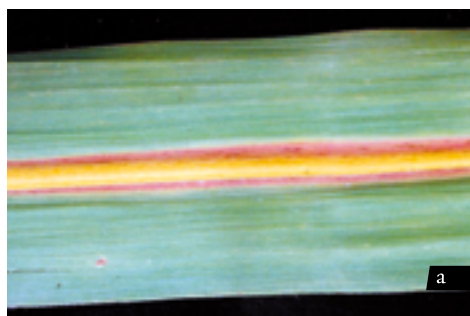


Figura 200. Síntomas inducidos por *Sugarcane yellow leaf virus* (SCYLV) en hojas de caña de azúcar. a. Amarillamiento en nervadura principal en el envés; b. Coloración rojiza en la nervadura principal en el haz. Se pueden observar, además, puntos y estrías blancas a lo largo de las hojas.

una estructura isométrica de 65-70 nm de diámetro, con 12 espinas del tipo A ubicadas en los vértices del icosaedro. La cápside interna tiene una organización $T=2$ con 55 nm de diámetro y 12 espinas del tipo B. Su genoma consiste de 10 segmentos lineares de dsRNA que codifican para 12 proteínas. Cada segmento tiene un tamaño de 1,4 a 4,5 kb, para un genoma total de cerca de 29 kb, que se caracteriza por ser bajo en %G+C (34-36%). Los extremos 5' y 3' de los diferentes segmentos son altamente conservados con motivos: 5'AAGUUUUU 3' y 5'CAGCANNNGUC 3', en su orden. Los segmentos 1 a 6, 8 y 10 son monocistronicos, mientras que los dsRNA 7 y 9 contienen dos ORF. El segmento 1 (s1) codifica para una RdRp, mientras que s2 y s4 lo hacen para proteínas del core de la partícula. El s3 codifica para la espícula B de la cápside, el s8 para una posible proteína de unión del tipo NTP, el s9 para una proteína estructural asociada

a viroplasmos y el s10 para la cápside externa. Hoy en día no se conoce la función de los productos de los segmentos s5, s6, s7 y s8.

El FDV produce síntomas que se caracterizan por la presencia de agallas sobre la nervadura central y el envés de las hojas, que pueden incluso llegar a 5 cm de largo por 2-3 mm de ancho. Por lo general estas agallas y enaciones resultan de la hipertrofia de las células del floema. Las plantas afectadas se presentan enanas y con cambios en la textura de las hojas. *S. officinarum* y *S. edule* son más susceptibles al FDV que *S. robustum* y *S. spontaneum* (figura 201). Esta enfermedad no se presenta en América, y se restringe al Pacífico sur (Samoa, Filipinas, Tailandia, Malasia, Australia, etc.), en donde se ha reportado que causa pérdidas hasta del 90 % en variedades susceptibles al patógeno.

{ 244 }

FOTOS: Barry Croft



Figura 201. a. Síntomas de agallas sobre el envés de hojas; b. Síntomas de enanismo severo de plantas de caña de azúcar afectadas por Fiji disease virus (FDV).



FOTOS: Barry Croft

Los vectores del virus son las ninfas y adultos de los delécidos *Perkinsiella saccharicida*, *P. vastatrix* y *P. vitiensis*, que lo transmiten de forma persistente propagativa, pero no transovárica (figura 202). El FDV no se transmite mecánicamente.

El control de FDV recae en la siembra de materiales resistentes al virus y certificados por su sanidad viral, así como en la inspección y erradicación temprana de las plantas que presentan síntomas en el campo. El virus se puede identificar mediante una prueba de RT-PCR con los cebadores específicos FDV7F y FDV7R que generan un amplicón de 450 pb.

{ 245 }

Figura 202. Insectos adultos de *Perkinsiella saccharicida*, vector del Fiji disease virus (FDV).





Virus del cultivo de arroz (*Oryza sativa*)

El arroz es el segundo cultivo en extensión en el planeta después del trigo, con cerca de 154 millones de hectáreas. Este cereal es la principal fuente de calorías para una gran proporción de los habitantes de Asia, donde se obtiene cerca del 90% de su producción mundial. También es cultivado en África (9 millones de hectáreas) y en América Latina (6,8 millones), región en la que Brasil es el principal productor, con cerca de 3,8 millones de hectáreas. Se estima que 3.000 millones de personas dependen directamente del arroz como su principal fuente de alimento.

Las pérdidas debidas a enfermedades de este cultivo varían entre el 9 y 15%; desde la perspectiva económica, las afecciones más limitantes son el tizón del arroz (*Magnaporthe grisea*, estado perfecto de *Pyricularia grisea*), el añublo de la vaina (*Tanatephorus cucumeris* estado perfecto de *Rhizoctonia solani*), el añublo bacterial (*Xanthomonas campestris* pv *oryzae*) y el tungro del arroz, causada por el complejo viral *Rice tungro bacilliform virus* (RTBV) y *Rice tungro spherical virus* (RTSV); este complejo de virus no se ha detectado aún en el continente americano.

Hasta el momento se han reportado en el mundo unos quince virus que infectan al arroz como hospedante principal y otros 23 que actúan sobre diferentes gramíneas, incluyendo al arroz (por ejemplo, BYDV). Doce de estos virus se presentan especialmente en Asia: *Rice black streaked dwarf virus* (RBSDV), *Rice bunchy stunt virus* (RBSV), *Rice dwarf virus* (RDV), *Rice gall dwarf virus* (RGDV), *Rice grassy stunt virus* (RGSV), *Rice ragged stunt virus* (RRSV), *Rice necrosis mosaic virus* (RNMV), *Rice stripe virus* (RSV), *Rice transitory yellowing virus* (RTYV), RTBV, RTSV (figura 203); dos en África: *Rice yellow mottle virus* (RYMV) y *Rice stripe necrosis virus* (RSNV); uno en Europa: *Rice Giallume virus* (RGV), y uno en América: *Rice hoja blanca virus* (RHBV).

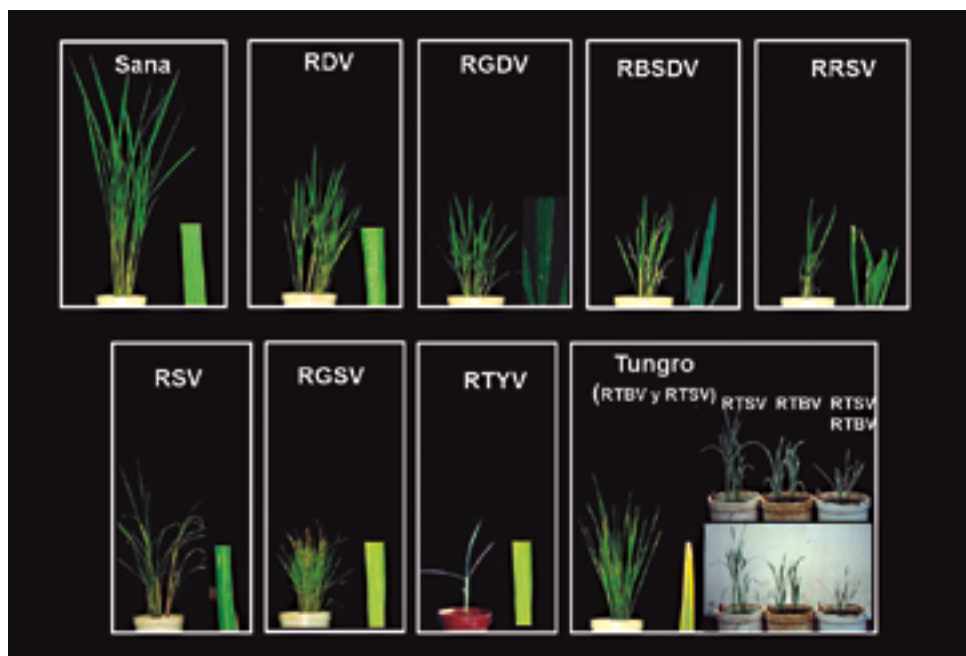


Figura 203. Síntomas inducidos por nueve virus que afectan plantas de arroz en Asia.

En los últimos años se han identificado nuevas especies de virus que perjudican el cultivo de arroz en diferentes partes del mundo. Uno de los más limitantes es el Southern rice black streaked dwarf virus (SRBSDV), un fijivirus transmitido por *Sogatella furcifera* de manera persistente y propagativa, que ha causado grandes pérdidas no solo en arroz, sino también en maíz en China, Vietnam y Japón; se ha reportado que en los dos primeros países afectó más de 500.000 hectáreas en el año 2011. Las plantas infectadas con este virus presentan síntomas típicos de enanismo, acompañados de verdeamiento de hojas, enrollamiento de puntas de las láminas foliares, presencia de pequeñas agallas cerosas en el envés de hojas y en los tallos, además de la ocurrencia de raíces aéreas y brotes aéreos irregulares (figura 204). Esta especie de virus fue propuesta como nueva para la familia *Reoviridae* en el IX Reporte de ICTV.

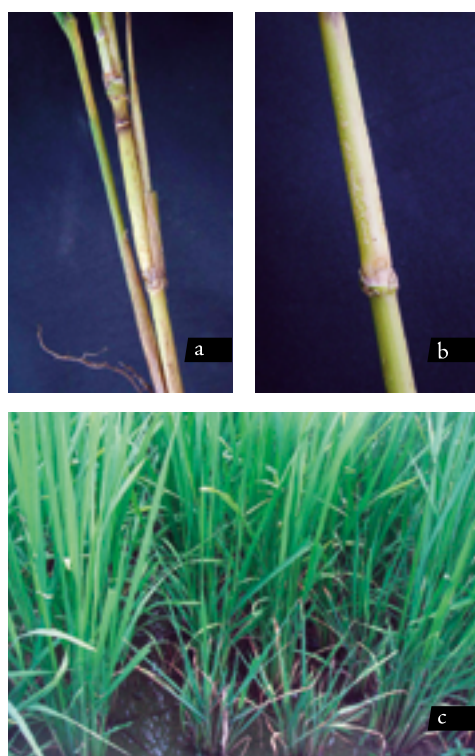
Entre los factores que más influyen en las enfermedades virales del cultivo del arroz se destaca la presencia de gran cantidad de saltahojas y saltaplantas en los agroecosistemas arroceros, que, además, causan un daño directo. Por otra parte, se considera que el establecimiento de monocultivos intensivos en el uso de insumos agrícolas ha acentuado los efectos de las enfermedades virales del arroz; de hecho, son escasos los reportes de epidemias virales en cultivos regidos por sistemas tradicionales.

Rice tungro bacilliform virus (RTBV) y Rice tungro spherical virus (RTSV)

Tungro, término filipino que significa degeneración del crecimiento, es la enfermedad viral más importante del cultivo de arroz en el sur y sudeste asiático, donde se ha presentado en proporciones epidémicas desde mediados de 1960. La causa es el complejo de virus *Rice tungro bacilliform virus* (RTBV) y *Rice tungro spherical virus* (RTSV). El primero es un miembro de la familia *Caulimoviridae*, género *Tungrovirus*, con viriones baciliformes de 100-300 nm en longitud y 30-35 nm de diámetro. Tiene como genoma una molécula de dsDNA circular de 8 kpb, con una discontinuidad en ambas cadenas. Presenta cuatro ORF que codifican para proteínas de 24 kDa (p24), 12 kDa (p12), 194 kDa (p194) y 46 kDa (p46); las funciones de las dos primeras y de la p46 son desconocidas, mientras que la p194 es una poliproteína que se cliva para dar origen a una proteína de movimiento célula-célula, la cápside, una aspartato-proteasa y una replicasa con dominios de RT y RNasa H.

Por su parte, RTSV es la especie tipo del género *Waikavirus* (*Sequiviridae*). Presenta viriones isométricos de 30 nm de diámetro y +ssRNA de 12,4 kb, provistos de vp_g en el extremo 5' y una cola de poli-A en el 3'. Su genoma tiene un ORF que codifica para una poliproteína de 390,3 kDa con motivos para tres subunidades de proteínas de cápside cerca del extremo N-terminal y para rpr_d, proteasa y una proteína de unión a nucleósido-trifosfato (*NTP-binding protein*).

{ 248 }



FOTOS: Guohui Zhou

Figura 204. a. Síntomas de producción de raíces aéreas; b. Agallas cerosas en las cañas; c. Enanismo severo de plantas de arroz infectadas por el Southern rice black streaked dwarf virus (SRBSDV).

Los síntomas característicos del tungro incluyen enanismo, decoloración amarillo-anaranjada en las láminas foliares, que generalmente comienzan desde la punta de las hojas bajas; se pueden también presentar manchas necróticas. En los estados iniciales de la infección, las hojas muestran aclaramiento intervenal y enrollamientos. Las plantas infectadas por lo general viven hasta la madurez, pero presentan panículas pequeñas, estériles y, en algunas ocasiones, sin emergencia completa (figura 205).

Estos virus causan reducción en la producción de entre 10 y 40% por efecto de la disminución del número de granos y de su llenado incompleto; es frecuente además que los granos tengan una apariencia manchada de color oscuro. Se ha identificado a los haces vasculares como los sitios de localización de los virus y el floema es el principal tejido que afecta el RTSV. Las plantas infectadas solo con RTBV presentan síntomas moderados de tungro, mientras que si la infección ocurre únicamente a partir de RTSV, casi siempre es asintomática o, cuando más, se presenta enanismo leve.

Los virus RTBV y RTSV se transmiten de manera semi-persistente por los saltahojas *Nephotettix virescens*, *N. nigropictus*, *N. cincticeps*, *Recilia dorsalis*, y otras especies de *Nephotettix* (figura 206). Ambos virus pueden ser contraídos y transmitidos simultáneamente, pero la adquisición de RTBV por parte del vector depende de la presencia de RTSV en el hospedante. Inmediatamente después de la alimentación en plantas infectadas con RTBV y RTSV, el saltahoja vector puede transmitir el virus, pero, además, lo puede retener por 4-5 días (RTBV) y 2-4 días (RTSV). Ambos virus son no circulativos y no propagativos en sus vectores, por lo que su retención ocurre en el aparato bucal de los mismos.

El rango de hospedantes de estos virus está restringido a *Poaceae* y *Cyperaceae*; el arroz es su hospedante principal, y las macollas sobrevivientes entre períodos de cultivo, su reservorio natural. Algunas de las malezas susceptibles a tungro son: *Eleusine indica*, *Echinochloa colonum*, *Paspalum* sp., *Setaria* sp., entre otras.

{ 249 }

FOTOS: Sarendra Kumar Mangrauthia



Figura 205. Síntomas de tungro del arroz causados por *Rice tungro bacilliform virus* (RTBV) y *Rice tungro spherical virus* (RTSV). a. Enanismo de plantas; b. Decoloración completa y parcial de láminas foliares, acompañadas de enrollamiento foliar.



Figura 206. Ninfas y adultos de *Nephotettix* sp., los insectos vectores de *Rice tungro bacilliform virus* (RTBV) y *Rice tungro spherical virus* (RTSV) en arroz.

{ 250 }

El manejo de la enfermedad de tungro depende fundamentalmente del cultivo de variedades resistentes a los vectores y con menos frecuencia a RTSV; sin embargo, es común que la resistencia obtenida sea superada muy rápido por los vectores. Por fortuna, el IRRI ha identificado diferentes fuentes de resistencia a RTSV en plantas de arroz silvestres como *Oryza nivara*, que han dado origen a materiales como PSBRC10, PSBRC18 y PSBRC28, y a las líneas ya reconocidas IR20, IR26, IR54, IR60 e IR62 liberadas en los años 1970 y 1980.

Desde el punto de vista cultural, es necesario ajustar los períodos de siembra para evitar las épocas óptimas para el desarrollo poblacional de los vectores y realizar prácticas de rotación con diferentes variedades tolerantes al vector. El uso de insecticidas es útil cuando se aplica en los bordes y en las etapas iniciales del cultivo, pero no cuando las poblaciones de los insectos son altas, pues la situación se agrava con la selección de aquellos con resistencia a insecticidas, sin contar con los delicados problemas de contaminación ambiental que se generan.

Rice hoja blanca virus (RHBV)

La hoja blanca del arroz causada por el RHBV es una enfermedad endémica de este cultivo en América. Se observó por primera vez en 1935, en el Valle del Cauca (Colombia), pero solo se tornó en económicamente importante después de 1956. La enfermedad ha sido detectada en Panamá, Cuba, Venezuela, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Nicaragua, República Dominicana, Ecuador, Perú y en el sur de los Estados Unidos, aunque en este país no tiene mayor importancia económica.

El agente causal de RHBV fue reconocido como miembro del grupo del *Rice stripe virus* en 1988 y fue definida como especie del género *Tenuivirus* en 1995. Sus viriones son filamentosos de 3-4 nm de diámetro y longitud variable, dado su arreglo espiral. Su genoma consiste de cuatro moléculas de ssRNA que suman cerca de 17,6 kb. El RNA 1 (de polaridad negativa) tiene 9,8 kb y codifica para la replicasa viral. Los RNA 2 (3,5 kb) y 3 (2,3 kb) codifican cada uno para dos proteínas en forma ambisentido; en el último se incluye la cápside viral de 35 kDa. El RNA 4 también es ambisentido (1,9 kb) y codifica al menos para una proteína no estructural de 23 kDa. El virus está serológicamente relacionado con *Echinochloa hoja blanca virus* (EHBV), que produce síntomas de hoja blanca en plantas de *Echinochloa colonum*.

Los síntomas de la enfermedad comienzan a manifestarse en plántulas jóvenes como pequeñas manchas cloróticas, que se presentan como delgadas líneas blancas en las hojas que van a emerger. En plantas adultas, ocurren múltiples líneas blancas en las láminas foliares, que pueden, al final, darles una apariencia completamente blanquecina (figura 207). Las plantas infectadas presentan enanismo, e incluso pueden morir prematuramente por efecto de la enfermedad. Las panículas por lo general se deforman, y presentan inflorescencias estériles o ausentes, situación que hace que las primeras se tornen erectas, al tener un número reducido de semillas. La palea

y lema muestran decoloración marrón, se secan rápidamente y se pueden deformar. Las raíces de las plantas presentan reducción en su crecimiento e incluso, a veces, necrosis de tejidos.



FOTOS: (a) Jairo Castaño (b) Francisco Morales

Figura 207. Síntomas de hoja blanca del arroz causados por *Rice hoja blanca virus* (RHBV).

rHBV se transmite de manera persistente, circulativa y propagativa por el saltahoja *Tagosodes orizicolus* (anteriormente *Sogatodes oryzicola*), insecto comúnmente denominado en Suramérica como sogata (figura 208). *Sogatodes cubanus* también puede transmitir RHBV desde el arroz a otras gramíneas como *Echinochloa*, pero no entre plantas de arroz o desde arvenses al arroz. *T. orizicolus* puede adquirir el virus después de períodos de alimentación de 15 minutos, con un óptimo de 1 hora. El período de latencia se estima entre 6 y 9 días para individuos que adquieren el virus de modo transovario, pero puede extenderse hasta 30-36 días cuando adquieren el virus como ninfas o adultos. Ya que se ha observado que las hembras no virulíferas ovipositan un mayor número de huevos que aquellas virulíferas, se sugiere un efecto deletéreo del RHBV sobre su vector. Como el período de incubación normalmente excede el ciclo de vida de los machos (14-24 días) y es similar al de las hembras (30-44 días), es frecuente que los vectores que adquieren el virus por alimentación de plantas infectadas, no lo transmitan; es entonces fundamental la transmisión transovárica. Por esto, se estima que en el campo el porcentaje de insectos virulíferos activos solo es del 5% al 15%.

{ 251 }



Figura 208. Adultos y ninfas de *Tagosodes orizicolus*, el vector del *Rice hoja blanca virus* (RHBV).

La enfermedad de la hoja blanca tiene una naturaleza cíclica, con la aparición de epidemias aproximadamente cada década, y puede causar pérdidas de hasta el 100 % en campos de arroz de Colombia, Venezuela, Cuba y Ecuador. Supuestamente, la razón para dicho comportamiento recae en el efecto deletéreo del virus sobre su vector, que provoca la

FOTOS: (a) Jairo Castaño (b) Francisco Morales

reducción de las poblaciones luego de cada epidemia, pues, como se indicó, los insectos virulíferos ovipositan una menor cantidad de huevos y presentan una longevidad reducida en comparación con aquellos libres del virus.

El manejo de la hoja blanca se fundamenta en la siembra de variedades resistentes a *T. orizicolus* o al virus. Por fortuna, se han identificado como fuente de resistencia algunas variedades del tipo *Japonica*, que se utilizan para generar híbridos con los genotipos susceptibles *Indica* (por ejemplo, CICA7, CICA9, Fedearroz 2000, FLAR). Estos híbridos han sido ampliamente utilizados en zonas con situaciones endémicas de hoja blanca como Venezuela y Colombia, aunque su estabilidad en campo depende de las presiones poblacionales del vector y por ende del virus.

{ 252 }

El CIAT desde 1967 inició un programa de mejoramiento genético por resistencia al vector y al RHBV, que se ha mantenido hasta la actualidad y ha generado un gran número de materiales con niveles adecuados de resistencia. Sin embargo, esto no significa que el problema de la enfermedad se haya superado, por cuanto en los campos aún se presentan epidemias repentinas de hoja blanca. Por ejemplo, en la región del Tolima en Colombia, evaluaciones de incidencia realizadas entre 2010 y 2011 determinaron la ocurrencia de entre 1 y 5 % de plantas con síntomas visuales de la enfermedad. Así las cosas, es necesario mantener los esfuerzos multilaterales para renovar las fuentes de resistencia en las variedades comerciales y continuar con los seguimientos epidemiológicos tanto del virus como de las poblaciones de su vector.

Rice yellow mottle virus (RYMV)

RYMV es un miembro del género *Sobemovirus*, con viriones isométricos de 30 nm de diámetro y genoma de +ssRNA de 4450 nt. Tiene cuatro ORF traslapados (ORF1, 2a, 2b, 3) que se expresan a partir de una combinación de estrategias que incluyen poliproteína, cambio en el marco de lectura, codón goteante y sgrNA. El ORF 1 codifica para la proteína PI de 17,8 kDa que

actúa como la proteína de movimiento del virus. Los ORF2a y el 2b codifican para una poliproteína de 110,7 kDa, que contiene motivos putativos para una vpg, hel, proteasa y rdrp. El ORF 3 codifica para la proteína de la cápside viral de 26 kDa.

Las plantas infectadas con RYMV presentan enanismos, láminas foliares arrugadas, moteados, rayados amarillos, malformación de panículas, macollamiento reducido y esterilidad (figura 209). En términos citológicos, las células infectadas tienen partículas virales en arreglos cristalinos dispersos o agregados, así como túbulos y fibras flexuosas de 10-15 nm de diámetro en el citoplasma.

El RYMV se transmite de forma semipersistente por diferentes crisomélidos que incluyen las especies *Sesselia pussilla*, *Chaetocnema pulla* y *Trichispa sericea*. Por otra parte, su transmisión mecánica es eficiente, incluso aquella circunstancial por animales como ratas y grillos (por ejemplo, *Conocephalus merumontanus*). El virus se adquiere luego de 15 minutos de alimentación y puede inmediatamente ser transmitido a otras plantas. No presenta circulación en el cuerpo de los vectores crisomélidos, pero estos sí lo pueden retener por períodos de 2 a 3 días; se reportan incluso casos de retención de hasta 8 días.

El rango natural de RYMV se limita a especies de arroz silvestres (como *Oryza longistaminata*, *Oryza barthii*, entre otras) y cultivadas (*Oryza sativa*, *Oryza glaberrima*), además de algunas otras gramíneas como *Echinochloa colona*, *Panicum repens*, *Dinebra retroflexa*, *Eleusine indica* y *Eragrostis tenuifolia*, aunque su papel como fuentes de inóculo para el arroz no se ha definido con claridad.

El virus ocurre en diferentes sistemas de cultivo del arroz, aunque su incidencia es mayor, por lo común, en áreas irrigadas que presenten bajos niveles de rotación. Como genera altos títulos en los tejidos de arroz infectados (sobre todo en mesófilo y epidermis), su transmisión mecánica por efecto de las diferentes labores culturales es un aspecto que facilita la dispersión en los campos, al igual que el agua de riego.



FOTOS: Oumar Traore

RYMV fue primero observado en Kenia en 1966 y subsecuentemente, entre 1976 y 1983, se reportó en casi todos los países que cultivan arroz en África (Burkina Faso, Ghana, Costa de Marfil, Liberia, Mali, Níger, Nigeria, Sierra Leona y Tanzania); incluso se detectó en países insulares como Madagascar en 1989.

En la actualidad se considera al RYMV un virus emergente resultado de la intensificación de los sistemas tradiciones del cultivo de arroz en África. La introducción en este continente de los cultivares asiáticos del tipo *Indica* fue uno de los factores claves para la rápida dispersión, dada su alta susceptibilidad al virus. Los efectos sobre la producción de arroz varían del 10% al 100%, dependiendo de la edad de la planta al momento de la infección, la susceptibilidad de las variedades y las condiciones ambientales. Evaluaciones realizadas en Malí y Níger indicaron que el RYMV causó pérdidas del 70% y de 58%-68%, respectivamente, según pruebas de campo realizadas en dichos países. El manejo de la enfermedad recae en la siembra de materiales tolerantes al patógeno; existen varios cultivares tradicionales africanos que solo desarrollan síntomas moderados por efecto de la infección de RYMV.

{ 253 }

Figura 209. Síntomas de amarillamiento de láminas foliares y focos de plantas sintomáticas en un campo de arroz causados por el Rice yellow mottle virus (RYMV).





Virus del cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*)

El frijol es la leguminosa más cultivada para consumo humano en el mundo, con cerca de 27 millones de hectáreas que producen unas 21 millones de toneladas. El 96 % de dicha producción proviene de países en desarrollo, principalmente de las regiones tropicales y subtropicales del sudeste asiático, del subcontinente indio, de África oriental y occidental, de Latinoamérica y el Caribe. Por países, India es el principal productor de frijol con el 32 % del volumen mundial, seguido por Brasil (14 %), Birmania (9 %), México (6 %), Tanzania (4 %) y China (4 %).

El frijol y otras leguminosas ofrecen una importante fuente de proteínas para la población de países como Burundi (55 %), Ruanda (38 %), Uganda (20 %), Nicaragua (16 %), India (13 %), Brasil (13 %) y México (10 %), entre otros, ya que su contenido de proteínas es de 23 g por cada 100 g de semillas, lo que supera por mucho a cereales como el trigo (10,5 g de proteína), el maíz (9,4 g de proteína) y el arroz (6,6 g de proteína); de este alimento se obtienen cerca de 330 kcal/100 g.

El cultivo del frijol también tiene gran valor desde el punto de vista agronómico, al presentar asociaciones simbióticas con bacterias fijadoras de nitrógeno (como *Bradyrhizobium* sp.) y ser ideal para realizar rotaciones y cultivos mixtos con diversos cereales, dadas sus diferencias taxonómicas que facilitan el manejo fitosanitario, entomológico y edafológico en los agroecosistemas tropicales.

El frijol tiene su centro de origen en el continente americano y fue domesticado por tribus nativas precolombinas desde Argentina hasta México. Es una especie con altos niveles de variación y, por tanto, presenta grandes diferencias en sus sistemas de producción entre regiones; en especial se cultiva en las zonas altas y lluviosas de regiones de montañas, aunque también se siembra en grandes extensiones monocultivo en las tierras bajas y cálidas. El promedio general de producción de frijol en el trópico, por lo general, no supera una tonelada por hectárea, aunque se ha estimado que algunas variedades tienen un potencial productivo de hasta cinco toneladas, lo que representa un gran desafío agronómico.

La propagación se realiza por semilla sexual, por lo que los patógenos que se transmiten por esta vía toman especial importancia. Sobre este último aspecto, se ha estimado que los problemas fitosanitarios generan una reducción cercana al 10 % en la producción mundial de frijol. Se han descrito unas 73 enfermedades principales, 32 causadas por hongos, 5 por bacterias, 4 por fitoplasmas, 6 por nematodos y al menos 26 por virus. Algunas de las especies de virus más limitantes para este cultivo son: *Alfalfa mosaic virus* (AMV), *Cowpea mild mottle virus* (CPMMV), *Bean calico mosaic virus* (BCaMV), *Bean common mosaic virus* (BCMV), *Bean dwarf mosaic virus* (BDMV), *Bean golden mosaic virus* (BGMV), *Bean golden yellow mosaic virus* (BGYMV), *Bean mild mosaic virus* (BMMV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Bean pod mottle virus* (BPMV), *Bean rugose mosaic virus* (BRMV), *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV), *Southern bean mosaic virus* (SBMV), *Tobacco yellow dwarf virus* (TYDV), *Bean yellow dwarf virus* (BeYDV), *Bean yellow mosaic virus* (BYMV), *Cowpea chlorotic mottle virus* (CCMV), *Clover yellow vein virus* (CYVV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Beet curly top virus* (BCTV), *Peanut mottle virus* (PeMOV), *Peanut stunt virus* (PSV), *Tobacco streak virus* (TSV), *Soybean mosaic virus* (SMV) y *Tobacco necrosis virus* (TNV).

Esos virus presentan gran diversidad de ciclos infectivos y relaciones con sus hospedantes; así, por ejemplo, el BCMV tiene un estrecho rango de hospedantes en la familia *Leguminosae*, mientras que BYMV es altamente polífago al afectar plantas de cerca de 14 familias botánicas diferentes. De modo similar, virus reconocidos por sus amplios rangos de hospedantes, como el *Cucumber mosaic virus* (CMV) y *Tobacco necrosis virus* (TNV), tienen al frijol como uno de sus principales objetivos.

Los virus de las leguminosas se cuentan entre los primeros que fueron estudiados en la virología vegetal; fueron los trabajos con BCMV (1917) y SMV (1921), los pioneros. Algunos de estos virus afectan cultivos semestrales o anuales como el frijol común y el caupí (figura 210), así como leguminosas perennes como los tréboles y diferentes árboles y arbustos. También es posible la existencia de infección cruzada entre virus de leguminosas y de otras especies no leguminosas, como el caso del *Beet mild curly top virus* (BCTV) en remolacha en la zona templada o

del BYMV en gladiolos. Así mismo, el estudio de los virus de frijol impulsó el desarrollo de técnicas de detección de virus como ELISA y, en especial, de aquellas tendientes a evaluar la patología de semillas.

El manejo de las enfermedades virales del frijol recae en la combinación de diferentes medidas, apoyadas en la disponibilidad de métodos de diagnóstico altamente sensibles y económicos, y en la siembra de materiales tolerantes/resistentes a los virus prevalentes en las regiones de cultivo. Además, es necesaria la erradicación permanente de focos de inóculo, la siembra de semilla certificada por su sanidad viral (por lo común, se aceptan niveles de infección 0,1% a 0,5%), evitar cultivos escalonados en las regiones productoras, mantener bajos niveles de las poblaciones de vectores como áfidos (para BCMV, BYMV, CMV), moscas blancas (para BGMV y BDVY) y algunos coleópteros (para BRMV, BSMV, BYSV y BMMV) y establecer sistemas técnicos de rotación de cultivos.

{ 256 }



FOTOS: (a, b y e) Jairo Castaño (c y d) Francisco Morales

Figura 210. Síntomas causados por diferentes virus en plantas leguminosas. a. Mosaicos y ampollas en hojas causadas por *Cucumber mosaic virus* (CMV) en frijol pinto; b. Moteados en planta de maní causado por *Peanut mottle virus* (PEMOV); c. Mosaico y aclaramiento de venas causadas por *Southern bean mosaic virus* (SBMV); d. Amarillamiento, mosaico y enanismo severo causado por *Bean golden yellow mosaic virus* (BGYMV); e. Mosaico y verdeamiento de venas principales causado por *Bean common mosaic virus* (BCMV).

Bean common mosaic virus (BCMV)

El mosaico común del frijol fue registrado en EE. UU., por primera vez, en 1917, y fue después confirmada su etiología de origen viral. La enfermedad la causan dos potyvirus con relaciones filogenéticas: *Bean common mosaic virus* (BCMV) y *Bean common mosaic necrosis virus* (BCMNV). Hasta 1992, estos virus se consideraban como diferentes serotipos, B y A, respectivamente, de la especie BCMV. Sin embargo, con base en diferencias en la secuencias de aminoácidos de CP (en especial en la región N-terminal), en los efectos citológicos sobre los tejidos infectados y en sus reacciones serológicas, se propuso y aceptó su separación como dos especies del género *Potyvirus*.

Los viriones del BCMV consisten de varillas flexuosas de 750 nm de largo por 14 nm de ancho con cerca de 2.000 monómeros de proteínas CP de 30 kDa y un genoma de +ssRNA de ~10 kb, provisto de una proteína VPg en el extremo 5' y una cola de poli-A en el 3'. La organización del genoma de estos potyvirus consiste en dos UTR en los extremos 5' y 3' y un único ORF que traduce para una poliproteína, procesada de manera proteolítica para dar origen a diez proteínas maduras, tal como se indicó.

Desde los estudios pioneros, se ha encontrado gran variación en las reacciones patogénicas de diferentes aislamientos de estos virus. Para el caso del BCMV

se definieron al menos 10 patotipos, con base en su reacción sobre un grupo de cultivares diferenciales de frijol, caracterizados por la presencia o ausencia del gen de resistencia *i*, además de presentar otros genes específicos como *bc-1*, *bc-2*, etc.

El virus puede reducir la producción de frijol hasta en un 80%, además de afectar la calidad de las semillas. Tanto el BCMV como el BCMNV producen síntomas similares, aunque estos son muy variables al depender de los grandes niveles de diversidad que presentan las variedades de frijol, los genotipos virales y las condiciones agroecológicas donde se cultiva el frijol en el mundo. Sin embargo, los más característicos consisten en un mosaico acompañado de ampollamiento, con áreas verdes claras y oscuras, por lo general a lo largo de las nervaduras primarias y secundarias (figura 211). Además, las plantas se presentan enanas y con clorosis general. En algunas variedades, las hojas infectadas se enrollan hacia el envés y, en adición, estos virus (bajo diferentes temperaturas para BCMNV y a >30 °C para BCMV) inducen un síndrome denominado necrosis sistémica, raíz negra o necrosis de brotes, que casi siempre causa la muerte de las plantas. El síndrome resulta de la inducción por parte de cepas necróticas de hipersensibilidad en los haces vasculares de plantas con el gen dominante *i*.

{ 257 }

El BCMV tiene una distribución mundial gracias a su alta eficiencia de transmisión por semilla sexual que puede alcanzar hasta 35% en promedio. Por su parte,

foros: (a) Francisco Morales
(b) Jairo Castaño (c) Guillermo Ramírez



Figura 211. Diferentes síntomas inducidos por *Bean common mosaic virus* (BCMV) en plantas de frijol. a. Verdeamiento de venas y clorosis general; b. Ampollamiento y mosaico general en hojas; c. Verdeamiento de nervadura central.

hasta hace unos años se consideraba que el BCMNV presentaba un rango de distribución geográfica más estrecho, sobre todo en el oriente de África, aunque también se había registrado en las islas del Caribe. Sin embargo, hace poco se identificó este virus en diferentes países de América continental. Así, por ejemplo, en México, en un estudio dirigido a evaluar la distribución de ambas especies mediante el uso de identificación por RT-PCR para el gen CP, se encontró que BCMV incidía principalmente en los estados centrales, mientras que BCMNV proliferaba en la región oriental del país. El BCMNV también se transmite por semilla sexual y polen, así como de modo mecánico y por áfidos de manera no persistente.

El manejo de la enfermedad del mosaico común del frijol se fundamenta en la siembra de materiales tolerantes o resistentes y de semilla certificada por su sanidad viral; son muy efectivas aquellas variedades en las que ha sido posible la introgresión de genes como *bc-u*, *bc-2(2)*, *bc-3* e *i*.

{ 258 } *Bean golden mosaic virus (BGMV)*

El BGMV es un virus que causa enfermedades muy limitantes en frijol, en Latinoamérica, aunque su importancia es global, como se deriva de estimaciones en la década de 1990, que indican que cerca de 2,5 millones de hectáreas en el mundo fueron afectadas por su infección. Además de esta especie, otros begomovirus como el *Bean calico mosaic virus* (BCaMV) y *Bean dwarf mosaic virus* (BDMV) son de gran importancia para algunos países productores de frijol; el último, afectó cerca de un millón de hectáreas en Argentina y otros países de Suramérica durante los años ochenta.

El BGMV es la especie tipo del género *Begomovirus* (familia *Geminiviridae*). Sus viriones consisten de partículas cuasiisométricas geminadas de 18 x 30 nm, que contienen dos moléculas de ssDNA de ~2,6 nt (DNA-A y DNA-B). Estos dos componentes comparten una secuencia de cerca de 200 nt conocida como la región común (CR), que incluye el origen viral de

replicación. El DNA-A codifica para genes involucrados en replicación (*rep* y *ren*), regulación de la expresión de genes (*TRAP*) y CP, mientras que el DNA-B codifica para genes (*MP* y *NSP*) cuyos productos están asociados con el movimiento del virus y la modulación de los síntomas en sus hospedantes.

Hasta hace poco se consideraba que la especie BGMV tenía dos subtipos principales (I) y (II). El primero de distribución en Brasil y no transmisible de manera mecánica, y el tipo II, que actuaba principalmente en América Central y el Caribe y era transmitido con facilidad por medios mecánicos. Estudios recientes, basados en secuencias y análisis de propiedades biológicas, postularon que dichas variantes correspondían a diferentes especies; así, el tipo II fue renombrado como *Bean golden yellow mosaic virus* (BGYMV).

El BGMV fue en principio reportado en 1961, en Brasil, aunque definido como un problema menor para ese momento. Sin embargo, pocas décadas después, el mosaico dorado ha tomado proporciones epidémicas en diferentes regiones de ese país y otros latinoamericanos, sobre todo durante los meses más cálidos del año, ya que se favorece el aumento repentino de las poblaciones de su vector, la mosca blanca *B. tabaci*. Las pérdidas causadas por el virus dependen del momento de su llegada a las plantas y por la frecuencia del evento; llegan hasta el 100% si ocurre en las primeras semanas después de la emergencia en variedades susceptibles y hasta el 40% en cultivares tolerantes a la enfermedad.

Los síntomas sobre variedades susceptibles (como las andinas) se caracterizan por la ocurrencia de un mosaico amarillo intenso, acompañado de deformación de plantas, vainas y semillas (figura 212). En cultivares de frijol mesoamericanos (variedades de grano negro), el grado de intensidad del mosaico dorado es menor. Las plantas afectadas tempranamente también pueden tener abortos en flores, vainas con pocas semillas y, por ende, reducción general del rendimiento de los cultivos.

El virus tiene un rango de hospedantes estrecho que incluye *Macroptilium lathyroides*, *M. longipedunculatum*,

FOTOS: Satendra Kumar Mangrauthia



Figura 212. Síntomas de amarillamiento intenso con deformación de tejidos en plantas de frijol susceptibles al *Bean golden mosaic virus* (BGMV).

{ 259 }

Phaseolus lunatus y *P. vulgaris*. No se transmite de manera mecánica ni por semilla sexual. Por ello, su dispersión es muy dependiente del vector que, una vez adquiere el virus, permanece virulífero por varios días e, incluso, de por vida, aunque el virus no es propagativo ni transovárico (figura 213).

El manejo de la enfermedad se fundamenta en la selección de épocas de siembra que no favorezcan el aumento de las poblaciones de moscas blancas, como por ejemplo aquellos períodos cortos de lluvias seguidos por varias semanas con climas secos y cálidos. Así mismo, se debe evitar la presencia de cultivos (por ejemplo, soya, tomate, algodón) que sirven como hospedantes alternos de las moscas blancas, en especial cuando la cosecha de ellos coincide con la siembra o con las primeras etapas de desarrollo del frijol. El tratamiento de la semilla y de las plántulas con insecticidas sistémicos es útil para reducir las poblaciones del vector durante las primeras etapas del cultivo, lo que se puede complementar con el



FOTO: Francisco Morales

Figura 213. Plantas de frijol con fuerte infestación de moscas blancas transmisoras de *Bean golden mosaic virus* (BGMV).

uso de túneles con mallas antimoscas en cultivos de porte rastrojero o bajo. Por último, la siembra de variedades tolerantes o resistentes al virus es un factor clave para el manejo de la enfermedad.



Virus del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* y *S. phureja*)

Mauricio Marín Montoya
Pablo Gutiérrez Sánchez
José Fernando Gil Ramírez

El cultivo de la papa ocupa un lugar importante en la economía mundial, debido a su uso como fuente de almidón para consumo fresco, para la industria de alimentos, de concentrados para animales y de bebidas alcohólicas.

La producción mundial de papa se estima en 325 millones de toneladas, con un rendimiento promedio de 16,8 toneladas por hectárea. La región andina es la de mayor crecimiento en la producción del tubérculo, pues pasó de 30 millones de toneladas por año en la década de 1960 a 165,41 millones en la primera década del siglo XXI. China, Rusia e India son, en su orden, los mayores productores del tubérculo, en el mundo, con 72, 36 y 26 millones de toneladas, respectivamente. América Latina tiene un área cosechada cercana a 963.766 hectáreas, con un rendimiento promedio de 16,3 t/ha, un valor cercano al promedio mundial y similar al europeo, cuyo rendimiento es de 17,4 t/ha. Sin embargo, Latinoamérica, centro de origen del cultivo, presenta un consumo relativamente bajo del tubérculo (20,7 kg/persona), lo que contrasta notablemente con los altos consumos de Norteamérica y Europa (60 y 87,8 kg/persona, respectivamente).

Los principales problemas en la producción de papa incluyen dificultades de comercialización y poscosecha (variación en precios, costos de almacenamiento y demanda), plagas y enfermedades y la reducida calidad del tubérculo semilla. Esta última situación se relaciona estrechamente con el segundo aspecto y con la capacidad tecnocientífica de los países productores. Los efectos medioambientales adversos también limitan la producción de papa, en especial en las condiciones actuales del cambio climático global en el trópico alto.

Dentro de los limitantes asociados a los ataques de plagas y enfermedades, los virus juegan un papel importante, pues reducen el área fotosintética, la movilización de nutrientes y la acumulación de carbohidratos para la formación adecuada de los tubérculos, lo que afecta de manera directa los rendimientos del cultivo e imposibilita al agricultor para obtener tubérculo semilla de buena calidad.

En sistemas agrícolas tradicionales como los que predominan en las zonas altoandinas de Suramérica, lo descrito ocurre con frecuencia y conduce a la pérdida de vigor de la semilla y a un efecto acumulativo de diferentes virus que terminan por disminuir dramáticamente los rendimientos al cabo de varios ciclos de siembra-cosecha. En explotaciones tecnificadas, la situación se remedia con el empleo de semilla certificada por su sanidad viral, que es además monitoreada por los organismos de sanidad estatal.

En el mundo se han registrado cerca de 40 virus y viroides en cultivos de papa, los cuales se pueden agrupar con base en la dependencia que tengan para su supervivencia y diseminación. Dentro del grupo de los dependientes se destacan: PVX (*Potato virus X*, *Potexvirus*), PVY (*Potato virus Y*, *Potyvirus*), PVS (*Potato virus S*, *Carlavirus*), PVM (*Potato virus M*, *Carlavirus*), PAMV (*Potato aucuba mosaic virus*, *Potexvirus*), PVA (*Potato virus A*, *Potyvirus*), PMTV (*Potato mop-top virus*, *Pomovirus*), PLRV (*Potato leafroll virus*, *Polerovirus*),

PYVV (*Potato yellow vein virus*, *Crinivirus*), PVT (*Potato virus T*, *Betaflexiviridae*, sin género asignado), APMV (*Andean potato mottle virus*, *Comovirus*), PBRV (*Potato black ringspot virus*, *Nepovirus*), WPMV (*Wild potato mosaic virus*, *Potyvirus*), PSTVd (*Potato spindle tuber viroid*, *Pospiviroid*) y APLV (*Andean potato latent virus*, *Tymovirus*). En el segundo grupo, es decir, los que no dependen de la papa para su supervivencia, se encuentran: AMV (*Alfalfa mosaic virus*, *Alfamovirus*), BCTV (*Beet curly top virus*, *Curtovirus*), CMV (*Cucumber mosaic virus*, *Cucumovirus*), PYDV (*Potato yellow dwarf virus*, *Nucleorhabdovirus*), TRV (*Tobacco rattle virus*, *Tobravirus*), TMV (*Tobacco mosaic virus*, *Tobamovirus*), TRSV (*Tobacco ringspot virus*, *Nepovirus*), TOBRV (*Tomato black ring virus*, *Nepovirus*), TSWV (*Tomato spotted wilt virus*, *Tospovirus*) y TSV (*Tobacco streak virus*, *Ilarvirus*).

{ 262 }

Los virus que dependen del cultivo de la papa para su diseminación y supervivencia se caracterizan por tener un rango de hospederos más limitado; aquellos que no dependen tienen, por el contrario, un amplio rango de hospederos. Es de esperarse entonces que los primeros y sus diferentes razas causen enfermedades importantes en el cultivo (como PLRV, PVY, PVA, PVX y PVS), mientras que los segundos inducen enfermedades importantes en otros cultivos y solo algunas de sus razas representan una limitante para el cultivo de la papa. Sin embargo, los estudios en virología vegetal han demostrado que el efecto sobre la producción de papa es en especial crítico cuando los virus se presentan en conjunto, como es el caso de la infección simultánea de PVY y PVX, que puede llegar a destruir completamente el cultivo.

A continuación se describen las más relevantes características de seis de los virus principales que afectan este cultivo en diferentes regiones del mundo: PMTV, PVY, PVX, PVS, PLRV y PYVV.

Potato mop-top virus (PMTV)

El PMTV hace parte del género *Pomovirus*, familia *Virgaviridae*. Sus viriones consisten de tres partículas

elongadas, con simetría helicoidal, con forma de varillas rígidas de 18 a 20 nm de diámetro y longitudes de 60 a 300 nm. El virus tiene su genoma segmentado en tres moléculas de +ssRNA de 6043 nt (RNA 1), 3134 nt (RNA 2) y 2964 nt (RNA 3), con caperuzas hacia el extremo 5' y una estructura tipo tRNA hacia el extremo 3'. El RNA 1 tiene dos ORF; el primero codifica para una proteína de 149 kDa y el segundo lo hace para la RdRp mediante la estrategia de supresión del codón de parada. En las secuencias de dicho ORF también se han detectado dominios de metiltransferasa y helicasa. El RNA 2 tiene dos ORF que codifican para la CP y para una proteína generada por supresión del codón de parada denominada CP-RT. El RNA 3 codifica para TGB y para una proteína rica en cisteína (CRP) asociada con la severidad de los síntomas que causa el virus.

El PMTV constituye un pequeño grupo de virus que no requiere la expresión de CP para su movimiento sistémico en la planta hospedante, ni de la formación del virión, debido a que el TGB le ofrece la posibilidad de mover el RNA infeccioso del virus célula a célula y, si es necesario, a larga distancia, dentro de la planta. Tal RNA desnudo se puede encontrar en tubérculos asintomáticos y causar una infección secundaria para la siguiente temporada de siembra.

La manifestación de los síntomas característicos de la enfermedad depende de la presencia de los tres RNA en los tejidos. Para PMTV, el TGB pertenece a la clase I de este grupo de proteínas o tipo *Hordei*. TGB1 tiene la particularidad de poseer un dominio ATPasa/helicasa hacia su extremo C-terminal, involucrado en la unión cooperativa al RNA. Ambos extremos de la proteína pueden unirse a RNA tanto de cadena sencilla como de doble cadena. TGB2 y TGB3 asisten a TGB1 en el movimiento del virus a través de los plasmodesmos. Se ha descubierto, además, que CPRT interactúa también con TGB1 y facilita el movimiento sistémico del RNA viral a través de la planta, en especial en las zonas cercanas a la raíz.

El PMTV se transmite de forma persistente y muy específica por *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea*, agente causal de la sarna polvosa de la papa (figura 214). *s. subterranea* posee estructuras de resistencia denominadas quistosoros que pueden sobrevivir en el suelo durante varias décadas. El patógeno inicia su infección cuando los quistosoros liberan las zoosporas primarias, las cuales se adhieren a los pelos radiculares de la planta y comienzan la fase de penetración. Una vez dentro de las raíces de la planta, el patógeno forma un plasmodio primario multinucleado con una delgada membrana que luego se convierte en un zoosporangio, el cual dará origen a las zoosporas secundarias del patógeno.

Los principales síntomas que causa PMTV en cultivos de regiones templadas corresponden a mosaicos tipo *aucuba* en las hojas y anillos necróticos y agrietamientos en los tubérculos. Los más característicos son los anillos necróticos al interior de los tubérculos (*spraing*), lo que disminuye el valor comercial del producto. Dicho síntoma

también se atribuye a la presencia en infecciones conjuntas con *Tobacco rattle virus* (TRV). En las variedades cultivadas en los Andes estos síntomas no son evidentes, y en su lugar se presentan amarillamientos foliares, moteados localizados, enanismos y acortamiento de entrenudos (figura 215).

En condiciones experimentales, el virus puede infectar plantas de las familias *Chenopodiaceae*, *Solanaceae* y *Tetragoniaceae*. Dentro de estas se encuentran las plantas que se usan para su diagnóstico, las cuales corresponden a *Nicotiana debneyi* y *Chenopodium amaranticolor*, en las que se produce necrosis sistémica y lesiones locales concéntricas, respectivamente. *Nicotiana benthamiana*, *N. debneyi* y *N. delevandii* son las especies más apropiadas para el mantenimiento y propagación del virus en condiciones experimentales.

Potato virus Y (PVY)

El PVY es la especie tipo del género *Potyvirus* de la familia *Potyviridae*. La morfología del virus consiste en una cápside no envuelta, elongada, con simetría

{ 263 }



FOTOS: (a) Jorge Tenorio (b) autores

Figura 214. Síntomas causados por *Spongospora subterranea*, el vector del *Potato mop-top virus* (PMTV). a. Tubérculos con sarna pulverulenta; b. Raíces de plantas de papa con múltiples agallas.



FOTOS: (a) Carlos Cuchillanqui (b) Jorge Tenorio

Figura 215. Síntomas de moteados y clorosis de plantas de papa infectadas por *Potato mop-top virus* (PMTV).

helicoidal monopartita y flexuosa, una longitud de 684 nm a 730 nm, diámetro de 11 nm y un canal axial de 2-3 nm. El genoma tiene aproximadamente 9.700 nt, con una proteína vpg hacia su extremo 5' y poliadenilación hacia el extremo 3'. La proteína de la cápside es el principal componente del virión, con aproximadamente 2.000 unidades monoméricas. El genoma de PVY contiene un solo ORF que codifica para una poliproteína de 340-370 kDa, que es procesada por acción de tres proteasas en diez proteínas maduras. El procesamiento y función de todas estas proteínas es aún tema controversial, pero se cree que muchas de ellas son multifuncionales.

La especie PVY está formada por un complejo de diferentes razas y cepas. La primera variante identificada del virus se denominó PVC (*Potato virus c*), que luego pasó a ser PVY-C. Históricamente los aislamientos del virus se han dividido en tres razas principales: PVY-O, PVY-N, y PVY-C, de acuerdo con los síntomas inducidos en *Nicotiana tabacum* cv. Samsun y *Solanum tuberosum*.

{ 264 }

En papa, dependiendo de la variedad y la raza viral, se pueden desarrollar síntomas que van desde mosaicos y clorosis hasta necrosis de nervaduras (figura 216). Hace poco tiempo se incorporó en la clasificación de variantes el criterio del tipo de antigenicidad de la proteína de cápside y los genes de resistencia que vence en el hospedante. Ese es el caso del aislamiento denominado PVY-Z, el cual está serológicamente clasificado como PVY-O, pero que sobrepasa los genes *Nytr* y *Nc* y elicit el gen *Nz* en las plantas. Otro grupo se denomina PVY-N-wilga (PVY N-wi), con propiedades biológicas de los aislamientos PVY-N, pero está serológicamente clasificado como PVY-O, lo que permite deducir que presenta un genoma recombinante entre las secuencias de los dos tipos de aislamientos.

En los últimos años se ha detectado una variante adicional denominada PVY-NTN, serológicamente relacionada con PVY-N, pero que causa anillos necróticos en tubérculos de papa. La enfermedad se conoce



FOTOS: Carlos Cuchillanqui

Figura 216. Síntomas causados por *Potato virus Y* (PVY) en plantas de papa. a. Mosaico rugoso; b. Necrosis de nervaduras.



FOTO: Steen Lykke Nielsen

Figura 217. Anillos necróticos en tubérculos de papa causados por la variante NTN de *Potato virus Y* (PVY-NTN).

como PTNRD (*Potato tuber necrotic ringspot disease*) y puede ocasionar pérdidas hasta del 100 % en el cultivo (figura 217).

Dentro de las regiones que determinan la variabilidad del virus se ha encontrado que las 5' UTR y codificantes para la proteína P1 corresponden a las secuencias más variables en el género *Potyvirus*; son responsable hasta de un 28% de la variabilidad total existente entre los grupos O y N. Se ha postulado que hacia el interior de la región CP o de HC-Pro es posible que se presente la secuencia responsable de la inducción de los síntomas asociados PTNRD. Por otra parte, las regiones NIb y 3' UTR, constituyen puntos de variación y recombinación en este virus, y pueden servir para diferenciar las razas o patotipos a partir del estudio de sus secuencias.

El PVY se transmite de forma mecánica, por injerto y por áfidos de manera no persistente, principalmente por la especie *Myzus persicae*, aunque también se han reportado *Aphis fabae*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus (Nectarosiphon) certus*, *Myzus (Phorodon) humuli* y *Rhopalosiphum insertum*. No requiere un virus auxiliar, aunque sí puede facilitar la transmisión de otros virus como el *Potato aucuba mosaic virus*.

A manera experimental, se pueden emplear especies de las familias *Solanaceae*, *Commelinaceae* y *Chenopodiaceae* para las pruebas biológicas de transmisión y expresión de síntomas, así como también para obtener fuente de inóculo viral. Luego de inoculaciones en *N. glutinosa* y *N. tabacum*, se pueden desarrollar síntomas tales como moteado sistémico suave o severo y aclaramiento sistémico de venas.

Potato virus X (PVX)

El PVX es la especie tipo del género *Potexvirus* familia *Alphaflexiviridae*. Sus viriones se caracterizan por tener una morfología flexuosa con simetría helicoidal, con una longitud de 470 a 580 nm y un diámetro de 13 nm. Su genoma es de 6,4 kb de +ssRNA, con caperuza hacia el extremo 5'.

En la región 5'-UTR, el virus posee un motivo repetitivo de ACCA muy conservado entre aislamientos de PVX, pero no siempre presente en todas las especies del género *Potexvirus*; por ejemplo *Potato aucuba mosaic*

virus no cuenta con dicho motivo. Esta región interactúa con otras complementarias a lo largo del genoma que funcionan como promotores de la transcripción de los sgrNA y muestran estructuras secundarias del tipo tallo-asa (SL) que participan en la regulación de la síntesis del RNA. Mutaciones dirigidas a esta secuencia repetida (ACCA) han demostrado que las repeticiones localizadas entre los nt 9 a 13 son indispensables para la acumulación del RNA genómico y, además, afectan la replicación viral.

El genoma del PVX contiene cinco ORF, que (con excepción del ORF 1) se expresan mediante sgrNA. El ORF 1 contiene motivos metiltransferasa, helicasa y RdRp. Los ORF 2, 3 y 4 son traslapados y constituyen el tgb clase 2 o tipo *Potex*, que codifica para proteínas de 25, 12 y 8 kDa, respectivamente, involucradas en el movimiento del virus célula a célula. El ORF 2 también contiene un segundo motivo helicasa, mientras que el ORF 5 codifica para la proteína CP.

El virus se puede transmitir por inoculación mecánica y de manera natural por contacto entre plantas, pero no por polen o semilla. Las especies susceptibles al virus se encuentran en las familias *Amaranthaceae*, *Cruciferae* y *Solanaceae*; son *Brassica campestris* ssp. *rapa*, *Datura stramonium*, *Gomphrena globosa*, *Nicotiana tabacum* y *Solanum tuberosum*, las plantas comúnmente utilizadas para la experimentación.

Los síntomas que induce PVX en papa varían, dependiendo de su interacción con otros virus; pueden originar mosaicos, moteados, manchas anulares y necrosis (figura 218), mientras que en *Datura stramonium* y *N. tabacum* provocan anillos cloróticos sistémicos, seguidos de moteados y anillos cloróticos o moteados, respectivamente.

Potato virus S (PVS)

El PVS, género *Carlavirus*, familia *Betaflexiviridae*, se caracteriza por poseer viriones con morfología flexuosa de 650 nm de longitud x 12 nm de diámetro. Su genoma de +ssRNA de 8464 nt posee una caperuza

foto: Carlos Cuchillanqui



Figura 218. Síntomas de mosaicos causados por *Potato virus X* en plantas de papa.

de metilguanosina en su extremo 5' y una cola de poli-A en el 3'. Tiene seis ORF: el 1 representa alrededor del 70% del genoma y su proteína presenta tres dominios: uno hacia el extremo N-terminal de metiltransferasa, otro con motivos de helicasa en la parte central y el motivo de RdRp hacia el extremo C-terminal; esta proteína es autocatalítica.

{ 266 } Los ORF 2, 3 y 4 forman el TGB involucrado en el movimiento de la partícula viral; además, la proteína P2 posee un motivo helicasa, y las proteínas P3 y P4 poseen regiones posiblemente transmembranales muy hidrofóbicas. Estas proteínas se expresan mediante sgrna. Los ORF 5 y 6 dan origen a las proteínas CP y CRP; la última permite la unión del RNA a la cápside del virus y está involucrada en la supresión del silenciamiento postrascriptcional de genes en la célula hospedante.

Con base en la infección sistémica y no sistémica en *Chenopodium* spp., se pueden reconocer dos razas del virus: PVS-A (PVS Andino) y PVS-O (PVS ordinario). Las homologías entre ambas razas para las secuencias que codifican CP y la proteína de 11 kDa son de 93% y 79%, respectivamente.

En las proteínas mencionadas también se encuentra el mayor número de aminoácidos que difiere entre ambas razas, variación que sugiere los tipos de transmisión y sintomatología que induce el virus. Así, por ejemplo, PVS-O no causa sintomatología

en la mayoría de cultivares de papa de la subespecie *tuberosum*, pero en ocasiones produce leves rugosidades en las hojas; PVS-A, por su parte, induce fuertes síntomas, que incluyen senescencia prematura y pérdida de hojas, en especial en plantas con infección secundaria, lo que ocasiona mermas superiores al 20% cuando se encuentra asociado a PVX. La transmisión de PVS-O se da principalmente por contacto más que por áfidos, mientras que PVS-A se concentra más en el tejido y se transmite con eficiencia de manera no persistente por especies de áfidos como *M. persicae*. El virus también se puede transmitir a partir de tubérculos infectados e, incluso, por plantas obtenidas por cultivo *in vitro*.

Potato leafroll virus (PLRV)

El PLRV es la especie tipo del género *Potyvirus*, familia *Luteoviridae*. Sus viriones corresponden a partículas isométricas con diámetro de 24 nm, que poseen un genoma completo de 5865 nt de +SSRNASS, en cuyo extremo 5' se encuentra asociada una VPg. El genoma del virus tiene ocho ORF densamente traslapados, con el ORF 1 que solapa el ORF 0 y el ORF 3 con el ORF 4.

El virus emplea diferentes estrategias para la expresión de sus proteínas; así, los tres primeros ORF (0 al 2) lo hacen a partir del RNA genómico, y los ORF proximales al extremo 3' (3 al 7) se expresan a partir de sgrna. El ORF 0 está involucrado en el desarrollo de la sintomatología y se cree que es un supresor del silenciamiento de genes en sus hospedantes. El ORF 1 tiene motivos de proteasa y contiene también la secuencia que codifica para VPg y posiblemente para una helicasa. El ORF 2 codifica para RdRp, mientras que el ORF 3 lo hace para la CP de 23 kDa. El ORF 4 codifica para una proteína de movimiento y la fusión de los ORF 3 y 5 genera una proteína estructural menor de 80 kDa, que se cree que participa en la transmisión del virus por áfidos. Los ORF 6 y 7 se han descrito hace poco y, aunque sus funciones son desconocidas, se especula que P7 tiene propiedades de unión a ácidos nucleicos.

Los aislamientos difieren muy poco unos de otros en sus secuencias. Esto se demostró en un estudio en el que se usaron 12 secuencias completas de aislamientos del virus y las identidades encontradas fueron del 94% al 98% sobre todos los ORF. Sin embargo, en el mismo estudio, con 19 aislamientos de PLRV que representaban cepas de diferentes continentes, se encontró que al comparar las secuencias de los ORF 0 y 5 y parte del 1 era posible dividir la especie en tres grupos: aislamientos australianos, aislamientos peruanos e ingleses, y un tercer grupo con aislamientos de Australia, Cuba y algunos europeos. Lo anterior conduce a plantear dos hipótesis sobre el origen de la especie: que divergió hace poco de un ancestro viral como resultado de su adaptación a papa, o que es una especie con fuertes restricciones de selección. En cualquier caso, la estrecha base genética de los cultivares de papa puede ser un factor que restrinja la variación de este virus.

El virus más relacionado con el PLRV, con base en sus secuencias de CP (70%), es el *Sweet potato leaf speckling virus* (SPLSV). Para otros polerovirus, este valor no supera el 65% de identidad.

El PLRV se transmite por áfidos, de manera persistente no propagativa, y se multiplica en el floema del huésped. La especie más eficiente para tal fin es *M. persicae*; sin embargo, *Macrosiphum euphorbiae* se constituye en un buen vector del virus, aunque menos eficiente, sobre todo para aislamientos australianos. Las familias taxonómicas *Amaranthaceae*, *Cruciferae*, *Portulacaceae* y *Solanaceae* contienen las especies vegetales que, en condiciones experimentales, presentan mayor susceptibilidad al virus; se destacan, además de la papa, *Amaranthus caudatus*, *Capsella bursa-pastoris*, *Celosia argentea*, *Datura stramonium*, *Gomphrena globosa*, *Lycopersicon esculentum*, *Montia perfoliata*, *Nicotiana clevelandii* y *Physalis floridana*. Los síntomas principales que ocasiona este virus en papa corresponden a enanismos y enrollamiento de hojas, acompañados de una grave reducción en el rendimiento (figura 219). En plantas indicadoras como *Datura stramonium*, se pueden observar amarillamientos sistémicos entre venas; en *Physalis*

floridiana se presenta clorosis sistémica entre venas y enrollamiento de hojas.



FOTO: autores

Figura 219. Síntomas de enrollamiento foliar causados por *Potato leafroll virus* (PLRV) en plantas de papa.

Potato yellow vein virus (PVV)

La enfermedad causada por el virus PVV (*Crinivirus*, *Closteroviridae*) se reportó por primera vez en cultivos de papa en Antioquia (Colombia), en el año de 1943. El virus se caracteriza por poseer un genoma tripartita. Presenta en su extremo 5' una caperuza y una estructura de pseudonudo hacia el extremo 3'. El RNA 1 (8035 nt) posee tres ORF: 1a y 1b contienen los dominios conservados L-proteasa, Mtr, Hel y RdRp y la pequeña proteína hidrofóbica p7. La RdRp se produce por el cambio en el marco de lectura +1, como ha sido demostrado para el género *Closterovirus*. El ORF 2 produce una pequeña proteína hidrofóbica que contiene putativamente una hélice transmembranal. Esta proteína varía en su ubicación en los crinivirus. El RNA 2 (5339 nt) tiene cinco ORF potenciales: Hsp70h, p7, p60, p10 y CP. El RNA 3 (3892 nt) posee tres ORF potenciales que codifican para p4, CPM y p26. El virus presenta una baja variación genética entre los aislamientos de Perú y Colombia, las zonas más afectadas por la enfermedad del amarillamiento de venas de papa, al ocasionar pérdidas hasta del 50% en los cultivos de papa de esos países. Cabe resaltar que es un virus restringido al continente americano y sus síntomas característicos corresponden a amarillamientos de las venas secundarias, acompañados de un color amarillo intenso en la lámina foliar (figura 220).

Mediante infecciones dirigidas en diferentes solanáceas, se ha encontrado que, además de papa, el PVVY puede infectar el tomate y algunas plantas arvenses como *Polygonum* sp., *Tagetes* sp. y *Catharanthus roseus*. Los virus se pueden encontrar en células del floema y su transmisión ocurre por moscas blancas de la especie *Trialeurodes vaporariorum* de forma semipersistente y por tubérculo-semilla, pero no de manera mecánica.

luego ser propagadas en campos aislados de cultivos comerciales de papa; inspección periódica de los campos de propagación con el fin de eliminar plantas sintomáticas y manejar con rigor los vectores; utilización de pruebas de laboratorio sensibles como ELISA y pruebas moleculares para la detección de virus en los tubérculos-semilla y, así, verificar los niveles de infección viral aceptables por los organismos de sanidad estatal. En Colombia, por ejemplo, se permite hasta un 5 % de presencia de virus para semilla certificada y de 0 a 1 % para semilla básica, dependiendo de los virus. En Inglaterra, por su parte, los límites permitidos no superan el 0,01 % de plantas con síntomas virales para semilla prebásica, 4 % para semilla básica y 10 % para semilla certificada.

Existen diferentes programas de mejoramiento genético de papa alrededor del mundo, que han resultado exitosos para la generación de materiales tolerantes a algunos de los principales patógenos virales que afectan el cultivo. Se han detectado genes *R* que proveen resistencia a virus como PVX, PVY, PVA y PVM en especies solanáceas silvestres como *S. stoloniferum*, *S. andigena* y *S. acaule*. Así mismo, se han encontrado genes *N* que ofrecen reacciones de hipersensibilidad ante la infección viral en diferentes cultivares de papa y que, por tanto, han sido incorporados en los nuevos materiales cultivados.

El manejo de vectores, en especial de áfidos y moscas blancas, es otra práctica fundamental para mantener bajos los niveles de infección de virus como PVY, PLRV y PVVY, respectivamente; también lo son la eliminación de plantas voluntarias al inicio de las temporadas de siembra y evitar el escalamiento de cultivos. Vale señalar que estas últimas medidas son poco aplicables en los agroecosistemas de papa que se presentan en los Andes suramericanos. Para concluir, el manejo regional de las enfermedades de papa depende de la aplicación de esquemas estrictos cuarentenarios que impidan la introducción de virus foráneos en una zona determinada.

FOTOS: (a) Heidy Gamarra (b) autores



Figura 220. Síntomas causado por *Potato yellow vein virus* (PVVY) en papa. a. Amarillamiento de venas; b. Amarillamiento generalizado del tejido foliar de plantas en estado avanzado de la enfermedad.

Manejo de enfermedades virales en papa

El manejo de las enfermedades virales en papa se fundamenta en la siembra de tubérculos-semilla certificados, para lo cual existen diferentes esquemas que incluyen los siguientes aspectos: multiplicación de semilla prebásica y básica a partir de cultivo de tejidos *in vitro* y su endurecimiento en invernaderos o túneles de plástico con protección antiáfidos, para





Virus del cultivo de yuca (*Manihot esculenta*)

La yuca (*Cassava*, *manioc* o *tapioca*) es la tercera fuente de calorías en la alimentación de los países tropicales, después del arroz y el maíz. Su origen corresponde a las selvas del Amazonas, entre el norte de Brasil y Guyana. Las raíces tuberosas de esta planta de la familia *Euphorbiaceae* sirven de alimento principal para cerca de 700 millones de personas en el mundo, en especial de África, donde fue llevada por navegantes portugueses en el siglo xvi. En la actualidad en ese continente se cultiva yuca en por lo menos 17 millones de hectáreas, gracias a la tolerancia que presenta la planta en condiciones de estrés hídrico y con deficiencias nutricionales; aún en situaciones marginales de producción, permite obtener ganancias o reservas alimenticias para sus agricultores.

La producción mundial de yuca alcanza cerca de 262 millones de toneladas al año. Nigeria es el país con mayor producción, con 54 Mt/año, seguido por República Democrática del Congo (16), Ghana (14), Angola (10) y Mozambique (10). Así, la yuca producida en África representa cerca del 54% del total mundial; le sigue Asia (26%) y Suramérica (20%). El rendimiento promedio obtenido en África es bajo al alcanzar 8,9 toneladas por hectárea, lo que equivale a cerca de un 70% y 61% menos que el alcanzado en Suramérica y Asia, respectivamente.

A diferencia del uso alimenticio de la yuca en África, cuyo consumo per cápita es de 115 kg/año (contra 18 kg en el resto del mundo), en Asia este cultivo se utiliza fundamentalmente con fines industriales y energéticos; los principales productores son Indonesia (24 Mt) y Tailandia (22,5 Mt). Se estima que de una tonelada de yuca con un contenido de almidón de 30% es posible obtener 280 litros de etanol del 96%. Por su parte la producción de yuca en Latinoamérica y el Caribe se sitúa en cerca de 35 Mt; Brasil es el principal productor (23 Mt), seguido por Paraguay (2,5) y Colombia (2,2).

Las plagas y enfermedades son uno de los principales limitantes para la producción de yuca en el mundo, gracias al ciclo relativamente largo del cultivo (de 10 a 24 meses), que favorece mayores tiempos de exposición de las plantas a fitopatógenos y vectores. También, a su propagación vegetativa, que facilita la dispersión de propágulos e insectos, y a la ubicación subterránea de su producto comercializable, que impide realizar un monitoreo constante del estado sanitario y facilita su degradación por saprófitos y patógenos secundarios.

Se estima que a la yuca la pueden afectar cerca de treinta enfermedades de importancia económica en sus diferentes etapas de desarrollo, y es menor la cantidad de fitopatógenos e insectos encontrada en África que en Latinoamérica. Sin embargo, es frecuente que las enfermedades y plagas que ocurren en África sean particularmente más limitantes, como sucede con el ácaro verde (*Mononychellus tanajoa*), el piojo harinoso (*Phenacoccus manihoti*), el tizón bacterial (*Xanthomonas campestris* f.sp. *manihoti*) y dos enfermedades de origen viral: el mosaico (*Cassava mosaic disease*, CMD), causado por un complejo de begomovirus (por ejemplo, *African cassava mosaic virus*, ACMV; *South African cassava mosaic virus*, SACMV, y *East African cassava mosaic virus*, EACMV), y el estriado marrón (*Cassava brown streak disease*, CBSD), causado por dos especies de ipomovirus: *Cassava brown streak virus* (CBSV) y *Ugandan cassava brown streak virus* (UCBSV) (especie propuesta).

Otros virus que se han detectado en cultivos de yuca en el África son Cassava Ivorian Bacilliform virus (CIBV) (virus propuesto en el género *Alfamovirus*), Cassava Kumi viruses A y B, Cassava “Q” virus (virus no reconocidos hasta el IX Reporte por el ICTV) y *Cassava common mosaic virus* (CSCMV). Por su parte, en Latinoamérica, se registran los virus: CSCMV, *Cassava virus x* (CSVX), *Cassava vein mosaic virus* (CSVMV), *Cassava Colombian symptomless virus* (virus propuesto en el género *Potexvirus*), *Cassava American latent virus* (CSALV) y *Cassava frogskin “virus”* (posiblemente una especie viral). Por último, en Asia y en el Pacífico se registran el CSCMV, *Indian cassava mosaic virus* (ICMV), *Sri Lankan cassava mosaic virus* (SLCMV) y *Cassava green mottle virus* (CSGMV).

Cassava mosaic disease (CMD)

{ 272 }

La enfermedad del mosaico de la yuca fue descrita primero en Tanzania en 1894 y su etiología como de origen viral fue confirmada en 1930. Entre 1936 y 1938 se identificó su transmisibilidad por injerto y por moscas blancas del género *Bemisia*. En 1960 se originó un programa de resistencia genética a la enfermedad a partir de la introgresión de múltiples genes procedentes de *Manihot glaziovii*, programa que fue retomado por el Instituto de Agricultura Tropical (IITA) en 1970. Hacia 1980 se reportó que CMD era causada por dos begomovirus nombrados como *African cassava mosaic virus* (ACMV) y *East African cassava mosaic virus* (EACMV). En la actualidad se han sumado otras especies como agentes causales de la enfermedad, lo que ha dado como resultado la designación de al menos nueve especies, entre ellas: ACMV; *South African cassava mosaic virus*, SACMV; cuatro EACMV (*East African cassava mosaic virus*, EACMV; *East African cassava mosaic Cameroon virus*, EACMCV; *East African cassava mosaic Malawi virus*, EACMMV; *East African cassava mosaic Zanzibar virus*, EACMZV), y otras tantas en Asia (como ICMV y SLCMV). Las estimaciones del daño que produce esta enfermedad son muy variables; se reportan reducciones en los rendimientos de yuca de hasta un 87 % y una disminución de entre 19 y 27 Mt/año de la producción mundial.

Hasta la década de 1990, poca atención se le brindaba a CMD en África, pues el énfasis estaba en el manejo del tizón bacterial. Sin embargo, a partir de la epidemia ocurrida en Uganda a finales de los años de 1980 y del movimiento de grandes poblaciones de moscas blancas hacia el sur (20-30 km por año), que en pocos años alcanzaron países vecinos como Kenia, Sudán, Ruanda y Tanzania, la enfermedad se tornó en una pandemia que obligó al abandono de muchos cultivos en África central y oriental, lo que causó graves problemas de seguridad alimentaria para dichos países. Para el año 2005, el área afectada por CMD se expandía a una tasa de casi 3 millones de km² a lo largo de nueve países, con pérdidas estimadas en 13 Mt (cerca de una tercera parte de la producción total en los países afectados). En la actualidad la enfermedad ha alcanzado el occidente (desde Angola hasta Camerún) y el sur de África (Mozambique y Sudáfrica).

Como se indicó anteriormente, los begomovirus consisten de partículas geminadas de cerca de 30 por 20 nm, con un genoma bipartita (DNA A y B) de ssDNA circular de 2700-2800 nt. El DNA-A contiene ORF que codifican para replicación (AC1) y encapsidación (AV1), mientras que el DNA-B lo hace para el movimiento del virus (MP). Se ha encontrado que estos virus tienen la posibilidad de recombinarse y generar infecciones mixtas que resultan especialmente devastadoras para los cultivos. Así, por ejemplo, se comprobó que la variante Uganda (ugv) del EACMV, asociada a una severa epidemia de CMD en dicho país, correspondía a un recombinante del gen para CP entre ACMV y EACMV.

Las plantas afectadas con CMD presentan un rango de síntomas que incluyen desde los mosaicos típicos de colores amarillos a verde claro, acompañados por deformación y ampollamientos de las hojas, hasta enanismos severos, necrosis de pecíolos, defoliación y, por último, la reducción en la formación de raíces tuberosas (figura 221). Se ha encontrado que los síntomas se presentan de tres a cinco semanas después de la inoculación del virus, y es frecuente en variedades resistentes la recuperación o reversión de síntomas en las últimas etapas del cultivo.

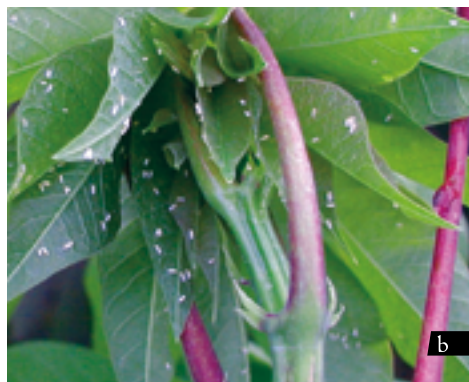
Como se señaló, los begomovirus asociados a CMD los transmiten *B. tabaci* de forma persistente, pero no transovárica, con un período de adquisición de 3-5 horas, de latencia de mínimo 3,5 horas (hasta 6 horas) y de inoculación de 5-10 minutos, aunque con grandes variaciones dependiendo de los biotipos del vector. El virus lo retienen los adultos hasta por nueve días, y persiste a través de las mudas, aunque las ninfas no tienen mayor importancia en la transmisión, dada su reducida movilidad (figura 222).

Entre las medidas de manejo del CMD se destacan las prácticas culturales fitosanitarias y la siembra de materiales resistentes. Las primeras involucran la remoción temprana de plantas sintomáticas en el campo, así como la siembra de material de propagación libre de virus; esto acompañado del establecimiento de programas de vigilancia cuarentenaria en regiones y países para evitar la llegada de nuevas cepas y variantes de los virus asociados a la enfermedad.

Con respecto a los materiales resistentes, ha sido de gran importancia el desarrollo del clon 58308, base del programa de mejoramiento genético del IITA y que, entre otros materiales, ha dado origen a las variedades TMS 60142 (Nase 1), TMS 30337 (Nase 2) y TMS 30572 (Nase 3), cultivadas en Uganda con buenos resultados, durante la pandemia de la década de 1990.



FOTOS: Alex Abaca



{ 273 }

Figura 222. Infestación severa de moscas blancas en plantas de yuca con síntomas iniciales de *Cassava mosaic disease*.



FOTOS: (a) Francis Nkaa (b) Alex Abaca



Figura 221. Síntomas del *mosaico de la yuca* causados por un complejo de begomovirus; a. Mosaico y deformación de hojas; b. Mosaico severo y reducción en el desarrollo de plantas.

Cassava brown streak disease (CBSD)

La enfermedad del estriado marrón de la yuca causada por CBSV y UCBSV (especie propuesta de *Ipomovirus*) fue reportada por primera vez en Tanzania por los años de 1930, y confirmada su naturaleza viral en 1959, luego de pruebas de transmisión a plantas herbáceas por inoculación mecánica. Veinte años más tarde se observaron las partículas filamentosas del virus de aproximadamente 650 nm de longitud y, con posterioridad, con base en secuencias del gen *CP*, se confirmó su identidad como miembro de la familia *Potyviridae* y específicamente del género *Ipomovirus*.

Los síntomas de la enfermedad son variables en extremo y se manifiestan en hojas, tallos y raíces tuberosas. En las hojas se presentan amarillamientos de venas secundarias y terciarias, acompañados de moteados cloróticos localizados, en especial sobre las hojas inferiores (figura 223). A diferencia del CMD, las hojas no presentan deformaciones o reducciones en su tamaño. Sobre los tallos se presentan rayados de colores pardos y necrosis, lo que dio origen al nombre de la enfermedad. En aquellas variedades muy susceptibles al virus, se presenta, además, muerte de brotes apicales, lo que puede alcanzar a toda la planta. En las raíces se presentan lesiones necróticas con apariencia seca, corchosa y de colores pardo-marrones que afectan drásticamente la calidad de la pulpa y facilitan la afección por patógenos secundarios (figura 224).

Los síntomas anotados pueden representar pérdidas de hasta el 70% en la producción de las raíces. Además, los agricultores ante la pérdida de calidad de la pulpa por efecto de la enfermedad, deciden cosechar tempranamente las plantas, con las consiguientes pérdidas asociadas, dada la merma de acumulación de almidón, al no presentar las raíces su madurez fisiológica.

Estos virus son transmitidos por *B. tabaci*, aunque los estudios hasta ahora realizados indican que la eficiencia de transmisión es baja y que, además, el insecto no puede retener el virus por más de 24 horas. También



FOTOS: (a) Alex Abaca (b) Maureen Mwangangi

Figura 223. Síntomas foliares de *Cassava brown streak disease* (CBSD) causada por dos *ipomovirus*. a. Los síntomas de clorosis y amarillamiento de venas por lo general ocurren en hojas viejas, mientras los brotes aparecen asintomáticos; b. Detalle de amarillamiento de venas secundarias y de pequeñas manchas cloróticas en la lámina foliar.

se ha confirmado la transmisión por injerto y mecánicamente; la propagación por esquejes de yuca es el principal medio de dispersión.

Esta enfermedad se ha reportado en Tanzania, Uganda, Zambia, Mozambique, Malawi y Kenia. Es más limitante en las regiones costeras, aunque se ha registrado en cultivos ubicados a 1.000 msnm.

El manejo de la enfermedad se fundamenta en los mismos principios descritos para CMD. Es primordial la siembra de variedades tolerantes, que manifiesten de modo tardío los síntomas en las raíces tuberosas (ordinariamente después de 12 meses), de manera que se obtengan mayores rendimientos aún en cultivos



FOTOS: Alex Abaca

Figura 224. Síntomas en tallos y raíces de *Cassava brown streak disease* (CBSD) causada por dos ipomovirus. a. Estriados y lesiones marrones en corteza de tallos; b. Deformación de raíces tuberosas; c-d. Lesiones necróticas en pulpa de raíces tuberosas.

{ 275 }

infectados. En este sentido, dos variedades de yuca de origen brasileño (*Aipin Valenca* y *Macaxeira*) han demostrado tener algún grado de tolerancia al CBSD. También se ha encontrado que la especie silvestre *Manihot melanobasis* es una importante fuente de genes de resistencia para el manejo de esta enfermedad.





Virus del cultivo de musáceas (*Musa* spp.)

Las musáceas comestibles (plátano y banano) representan el cuarto producto agrícola más importante para los países en desarrollo y son la base alimenticia de cerca de 400 millones de personas, dado su valor como fuente de carbohidratos, potasio y de vitaminas B6 y C. En países como Uganda el consumo anual per cápita de musáceas es de 243 kg y de 100 a 200 kg en Ruanda, Camerún y Gabón.

Existen cerca de mil variedades de banano y plátano, cultivadas en 150 países, que producen entre 105 y 120 megatoneladas al año. Los mayores productores son India (18,5 Mt), China (7,4 Mt) y Brasil (6,6 Mt). El banano es, además, la fruta fresca con mayor comercio internacional; varios países de Centroamérica (como Honduras y Costa Rica), de la región andina (Ecuador y Colombia) y Filipinas son responsables de cerca del 83% de las exportaciones mundiales.

El centro de origen del banano se ha ubicado en el sudeste asiático, aunque también se han encontrado plantas nativas en África. Navegantes portugueses lo introdujeron en el siglo XVI a América. Las variedades predominantes tienen diferentes niveles de ploidía (AB, AAAB, ABB, AAB, etc.) y casi siempre son híbridos de cruces entre las especies *Musa acuminata* (genoma A) y *Musa balbisiana* (genoma B). Predominan en el mercado los frutos derivados del subgrupo Cavendish (AAA) con 60-65 Mt y del plátano (AAB, ABB) con 40-50 Mt.

Los cultivos en cuestión presentan diferentes limitaciones, entre las que se destacan las fitosanitarias como las sigatokas (*Mycosphaerella musicola* y *M. fijiensis*), el marchitamiento vascular por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, el moko (*Ralstonia solanacearum*) y diferentes problemas virales, principalmente *Banana bunchy top disease* (BBTD), que hasta hace poco estaba restringido a países de Asia, las islas del Pacífico y África. Además de este problema viral, a las musáceas comestibles también las afectan *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Banana bract mosaic virus* (BBRMV), *Banana mild mosaic virus* (BANMMV), *Banana virus X* (BVX), *Sugarcane mosaic virus* (SCMV) y el complejo de especies *Banana streak viruses* (BSVs).

Banana bunchy top virus (BBTV)

La enfermedad del *bunchy top* (BBTD) es una de las más limitantes del cultivo del banano, reportada por primera vez en las islas Fiyi en 1879, y en la actualidad con distribución en cerca de 33 países del sudeste asiático, las islas del Pacífico, Oceanía, el subcontinente indio y África. Hasta el momento, el BBTD no se ha reportado en Centro y Suramérica, principales exportadores de banano para el comercio mundial, pero sí lo ha hecho su vector, el áfido negro del banano *Pentalonia nigronervosa* (reportado en Costa Rica).

El primer registro de BBTD en África fue en 1901, en Egipto, y hacia 1950 en África subsahariana, en lo que actualmente corresponde a la República Democrática del Congo. Desde 1990, el BBTV se ha identificado como un problema mayor para la producción de banano en África central y del sur, con registros como el de Malaui, en donde se estima que causó la destrucción completa de cerca de 3.500 hectáreas de banano, y otras regiones en donde su incidencia alcanza el 100%.

El agente causal es el *Banana bunchy top virus* (BBTV) (género *Babuvirus*, familia *Nanoviridae*), que presenta viriones con partículas isométricas de 18-20 nm de diámetro, restringidos al floema, y con seis segmentos de ssDNA designados como DNA-R, -U3, -S, -M, -C, y -N, cada uno de los cuales tiene cerca de 1,1 kb. Cada segmento es monocistrónico, es decir codifica para un solo ORF, con excepción del DNA-R que lo hace para dos.

Estudios realizados con base en los segmentos R, N y S han identificado dos variantes principales del virus: la del Pacífico sur y la asiática. En la primera se agrupan aislamientos de Australia, África, sur de Asia, Irán y Birmania, mientras que en la segunda lo hacen exclusivamente aislamientos del sudeste asiático.

{ 278 }

Los síntomas iniciales de la enfermedad consisten en estriados de color verde oscuro en las nervaduras centrales y pecíolos de las hojas bajas, aunque también pueden aparecer sobre venas secundarias en la lámina foliar. Dichos estriados pueden ser irregulares y estar formados por puntos y pequeñas líneas. También es frecuente que se presenten zonas verde oscuras, con forma de ganchos en la región entre la nervadura central y la lámina foliar. En las plantas maduras infectadas, las nuevas hojas emergen con dificultad, presentan tamaños menores de lo normal (por lo general, más estrechas), ondulaciones en la lámina foliar y márgenes cloróticos y enrolladas hacia arriba. Cuando ocurre esta situación en diferentes hojas, aparecen rosetas con hojas angostas, erectas y progresivamente más cortas, lo cual da origen al nombre de *bunchy top* (cogollo racimos). Los brotes (puyones), formados a partir de plantas madre enfermas, presentan enanismos, con expansión anormal de las hojas, y rosetas en las partes terminales del pseudotallo. Estos brotes infectados rara vez producen racimos (figura 225).

El BBTV se transmite de forma persistente y circulatoria, pero no transovárica, por el áfido negro del banano *P. nigronevosa*, que adquiere el virus luego de períodos de alimentación de al menos 4 horas —usualmente



FOTOS: Lyna Mukwa

Figura 225. Síntomas causados por *Banana bunchy top virus* (BBTV) en plantas de banano. a. Estriados de color verde oscuro sobre pecíolos de hojas infectadas (señalados) y ondulaciones en lámina foliar y bordes de hojas; b. Plantas con bajo desarrollo y síntomas de cogollo racimos.

de 18 horas— y lo retienen entre 15 y 20 días. Su inoculación ocurre luego de 15 minutos de alimentación (usualmente 2 horas) sobre plantas sanas, que desarrollarán los síntomas después de un mes

de la infección. Los áfidos vectores de BBTv se encuentran normalmente en forma gregaria alrededor de la hoja bandera y en la base de los pecíolos de hojas jóvenes, además de la corona del pseudotallo (figura 226). Es habitual que las colonias sean más numerosas en épocas lluviosas y que utilicen como hospedantes alternos otras musáceas como heliconias y aves del paraíso. En apariencia, el virus no se transmite de modo mecánico por herramientas de trabajo, pero sí a través de los cormos usados para la propagación de musáceas y de plántulas generadas por cultivo de tejidos sin certificación por sanidad viral.

foto: Lyna Mukwa



Figura 226. Colonias del áfido negro del banano *Pentalonia nigronervosa* en la corona del pseudotallo de una planta utilizada para experimentación con el *Banana bunchy top virus* (BBTV).

Ante la ausencia de fuentes de resistencia al *bunchy top*, el manejo de la enfermedad se fundamenta en el control de los áfidos vectores y en la eliminación de focos de infección, aunque se ha reportado que las variedades con genomas B (AAB y ABB) son menos susceptibles al BBTv que aquellas con genoma A (AA y AAA). Además, el hecho de que el plátano y banano son prácticamente los únicos hospederos del BBTv, hacen de la eliminación de plantas infectadas una práctica adecuada para reducir la diseminación del virus al disminuir la oportunidad de adquisición por vectores o por movimiento antropogénico.

Por otra parte, la naturaleza de esta enfermedad (propagación asexual del banano, con rango de hospedantes y vector específico) hace que la regulación cuarentenaria sea un factor clave para el manejo

regional o nacional del BBTv. Así, por ejemplo, en Australia se presenta una legislación estricta que controla las fuentes y el transporte de material de siembra de banano y obliga a la destrucción de plantas con síntomas, dada su cercanía con islas del Pacífico que tienen fuertes niveles de incidencia de la enfermedad.

Banana streak disease (BSD)

La enfermedad del rayado del banano (*Banana streak disease*, BSD) la causa un complejo de especies de virus del género *Badnavirus* (familia *Caulimoviridae*) y es la enfermedad viral más importante para el cultivo del plátano y banano en América y en algunos países de África. A pesar de la amplia distribución, por lo general no era considerada de importancia económica para el banano hasta el surgimiento de episodios epidémicos sobre líneas mejoradas y micropropagadas de híbridos interespecíficos de *Musa*, razón que en la actualidad se considera un gran limitante para el desarrollo de los programas de mejoramiento genético, dadas las restricciones cuarentenarias para la movilización de material vegetal en el mundo.

{ 279 }

Los viriones tienen morfología bacilar (30 x 150 nm), con genoma de dsDNA de 7,4 kpb, circular y replicación por retrotranscripción. Sus genomas contienen tres ORF. I y II codifican para dos proteínas pequeñas de función desconocida de 20,8 y 14,5 kDa, respectivamente. III codifica para una poliproteína de 208 kDa que se cliva para dar origen a una proteína de movimiento célula-célula, una proteasa aspártica, para la RT y la RNasa H.

Los virus asociados a BSD son serológica y genómicamente variables; es uno de los pocos grupos de virus de plantas con capacidad de integrarse en el genoma de sus hospedantes y causar infecciones episomales, aunque esto solo ocurre en plantas de *Musa* derivadas del genoma B.

Las especies de virus asociadas a BSD se pueden dividir en dos grupos. En el primero (*Banana streak OL virus*, BSOLV; *Banana streak GF virus*, BSGFV; *Banana*

streak Mysore virus, BSMYV y *Banana streak Imové virus*, BSV-IM), el DNA del virus se puede integrar en el genoma nuclear del hospedante, siempre y cuando este sea derivado de *Musa balbisiana*. Los miembros del segundo grupo (*Sugarcane bacilliform virus*, SCBV) derivan su origen de otras plantas diferentes a *Musa* sp., como caña de azúcar, y han pasado a plátano y banano en tiempos recientes.

Los grandes niveles de variación que presentan los BSV se pueden apreciar en un estudio realizado en Uganda en el que se encontraron 15 especies o cepas de virus en su forma episomal. La causa de tal variación no se ha determinado aún pero, tal como ocurre con otros virus que utilizan la retrotranscripción, se puede deber a las mutaciones generadas durante la replicación mediada

por la RT y a los múltiples eventos de recombinación que ocurren entre secuencias pararetrovirales.

La BSD se caracteriza por la presencia de rayados cloróticos y necróticos sobre la lámina foliar y sobre los frutos de las plantas infectadas; es frecuente además encontrar grabados y puntos necróticos en los pseudotallos y, eventualmente, se pueden romper y provocar la muerte de las plantas (figura 227). Sin embargo, una característica de la enfermedad es su intermitencia, lo cual es interpretado en el campo como *recuperación* de las plantas; incluso se presentan infecciones asintomáticas. Se ha sugerido que tal fenómeno de *reversión de síntomas* se debe al silenciamiento transcripcional o postranscripcional del virus que, con cierta periodicidad, es de nuevo sobrepasado por el virus.

{ 280 }

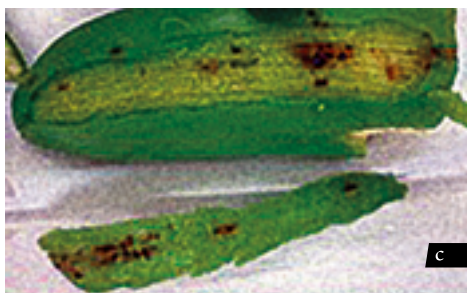
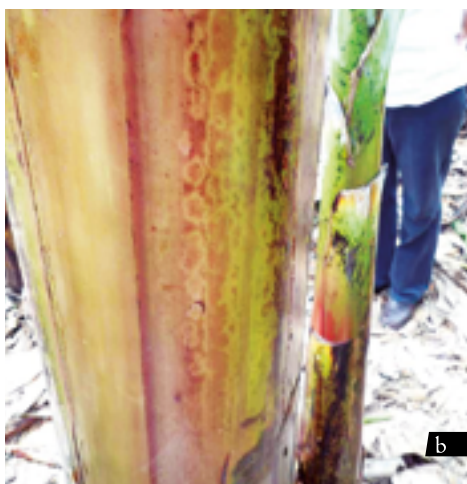


Figura 227. Síntomas de *Banana streak disease* (BSD) causados por un complejo de badnavirus en musáceas. a. Rayado clorótico en hojas; b. grabados cloróticos y necrosis en pseudotallo; c. Puntos necróticos y disminución en la calidad de los frutos de banano por deformación y bajo peso.

Estos virus se transmiten por cochinillas harinosas (*Pseudococcidae*) (figura 228) y por material de propagación vegetativa, pero no de manera mecánica. Recientemente se encontró que las especies de cochinilla *Dysmicoccus brevipes*, *Planococcus citri* y *P. ficus* tienen la capacidad de transmitir a la variedad Williams (Cavendish, subgrupo, AAA) el *Banana streak OL virus* (BSOLV) a partir de episomas activados luego del estrés inducido durante su propagación mediante cultivo de tejidos.

El control de esta enfermedad se basa en el uso de plantas libres de virus; sin embargo, esta situación es difícil de cumplir, dada la problemática para la detección viral, pues los virus asociados a BSD se presentan de modo usual con bajos títulos en los tejidos y tienen alto grado de heterogeneidad serológica y genética entre aislamientos. Además, la integración del genoma viral en los cromosomas del hospedante ofrece un reto especial para la detección de partículas virales activas. Como se indicó, este último fenómeno sucede sólo entre híbridos interespecíficos de *M. acuminata* y *M. balbisiana*, y genera serios problemas en híbridos triploides (AAB) y tetraploides (AAAB), en especial en los programas de mejoramiento genético de musáceas.



fotos: Jorge Tenorio

Figura 228. Infestación del pseudotallo de banano por cochinillas harinosas transmisoras del complejo de Banana streak viruses.





Virus del cultivo de papaya (*Carica papaya*)

La papaya es la tercera fruta tropical (excluyendo el banano) con mayor mercado internacional, con cerca de 11,22 millones de toneladas anuales, lo que representa el 15 % de la producción frutícola mundial, después del mango (53 %) y la piña (27 %). La producción ha crecido significativamente en los últimos años (4,3 % anual entre 2002 y 2010), gracias a las siembras masivas que viene realizando India (incremento de 20 % anual), lo que la ha convertido en el primer productor mundial con 39 %, seguido de Brasil (17,5 %) e Indonesia (7 %). En términos continentales, la producción de papaya se concentra así: Asia (53 %), Suramérica (23 %), África (13 %), Centroamérica (9,5 %) y el Caribe (1,3 %).

Desde el punto de vista de las exportaciones, se destacan México, Brasil y Belice, pues participan con el 63 % del mercado global. México es el líder con 41 %. En el caso de India, a pesar de ser el mayor productor, gran parte de su fruta se dirige al mercado interno y sus exportaciones no alcanzan el 1 % de total producido en ese país. A su turno, los mayores importadores de papaya son Estados Unidos con el 55 %, seguido por Singapur (8,3 %), Canadá (5,3 %), Holanda (4,2 %), Reino Unido (3,3 %), Alemania (3,2 %) y Hong Kong (3 %).

El aumento en la popularidad mundial de la papaya como fruta fresca se debe, entre otros aspectos, a que es una fuente importante de nutrientes antioxidantes como carotenos, vitamina c y flavonoides. Además, también es rica vitamina B y minerales como el magnesio y potasio. En la industrial, se utiliza como fuente de la enzima papaína que se emplea para la producción de cerveza, procesamiento de carne, elaboración de productos farmacéuticos y cosméticos.

Existen en esencia dos tipos de papaya cultivada: la de menor tamaño (hasta 2,2 libras) (hawaiana) y la mexicana (hasta 10 lb). La siembra se establece directamente con semilla sexual o por trasplantes seleccionados después de la floración (5-6 meses de edad) de plantas hermafroditas, dada la ocurrencia de plantas macho y hembra en esta especie. Sin embargo, en regiones subtropicales como Florida, Sudáfrica y Australia, el plantío se establece a partir de cultivares dioicos, ya que las plantas hermafroditas no resisten los fríos inviernos. De ordinario, los primeros frutos comercializables se obtienen luego de un año y la planta continua siendo productiva hasta por dos o tres más.

Este cultivo en el contexto mundial presenta dos problemas principales: las enormes pérdidas poscosecha de la cadena de comercialización de la fruta, que se estiman entre 30 y 60 % como resultado de enfermedades fúngicas, desórdenes fisiológicos, daños mecánicos o una combinación de los anteriores, y la virosis causada por el *Papaya ringspot virus* (PRSV), una enfermedad que reduce drásticamente el rendimiento, tamaño y calidad de fruto, además de la longevidad de las plantas.

Un caso emblemático del efecto provocado por el virus fue el ocurrido en Hawái en los años 1990, pues casi desapareció la explotación comercial de la fruta. Esta grave situación condujo al desarrollo de dos cultivares genéticamente modificados por resistencia al virus: *Sun Up* y *Rainbow*, liberados en 1998. En 2006 se liberó también el cultivar transgénico *Huanong 1* en China, que permitió la recuperación de la agroindustria en diferentes regiones de Asia y del Pacífico sur. Sin embargo, aún existen preocupaciones

sobre la seguridad de las papayas transgénicas en diferentes países del mundo como Japón, que siendo un gran importador de fruta tropical no permite la comercialización del material transgénico.

Además del PRSV, en este cultivo se han reportado cerca de otros diez virus, algunos de los cuales no han sido plenamente caracterizados hasta el momento y que incluyen: *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Papaya mild yellow leaf virus* (PMYLV) (virus propuesto en el género *Tenuivirus*), *Papaya leaf curl virus* (PALCV), *Croton yellow vein mosaic virus* (CYVMV), *Papaya leaf distortion mosaic virus* (PLDMV), *Papaya droopy necrosis virus* (PDNV) (virus propuesto en la familia *Rhabdoviridae*), *Papaya lethal yellowing virus* (PLYV) (virus propuesto en el género *Sobemovirus*), *Papaya mosaic virus* (PAPMV) y *Papaya meleira virus* (PMEV) (un virus en apariencia de dsRNA de identidad taxonómica hasta ahora no definida). De estos, además del PRSV, los que revisten mayor importancia económica son el PLYV, PMEV y PDNV.

{ 284 } *Papaya droopy necrosis virus* (PDNV) ha sido solo reportado en Florida, mientras que un virus similar denominado *Papaya apical necrosis virus* (PANV) se registró en Venezuela. Ambos tienen partículas baciliformes de 87-98 x 180-254 nm y 80-84 x 210-230 nm, respectivamente; por presentar agrupación de viriones en el núcleo de las células parenquimatosas infectadas, se presume que corresponden a un nucleorhabdovirus.

El PMEV, por su parte, fue registrado al sur de Bahía (Brasil) en la década de los años ochenta; se diseminó rápidamente por las principales regiones productoras de papaya del país (Espírito Santo, Pernambuco, Paraíba y Ceará). El principal síntoma de la enfermedad es la exudación excesiva de látex de consistencia fluida en los frutos, lo que les da un aspecto negrecido debido a su oxidación y, en casos extremos, una apariencia pegajosa, de la cual se deriva su nombre (*sticky disease*). Además, la consistencia y sabor de los frutos se modifica, lo que afecta su comercialización. Ese látex poco viscoso también se puede

presentar en los márgenes de las hojas y en los brotes apicales de las plantas. Su agente causal es un virus isométrico de 50 nm que tiene aparentemente dsRNA como genoma, pero cuya identidad taxonómica hasta el momento no ha sido definida. Se desconocen los vectores del virus, aunque preliminarmente se ha descartado que se trate de moscas blancas, que se habían postulado como un posible vector, dadas sus altas densidades poblacionales en cultivos de papaya afectados por el problema en Brasil.

El *Papaya lethal yellowing virus* (PLYV) solo se ha reportado en el nororiente de Brasil. Los síntomas que induce se caracterizan por un amarillamiento progresivo en el tercio superior de las plantas, que conducen a la marchitez y muerte. También se presentan manchas circulares de color verde en los frutos maduros. El virus tiene partículas isométricas de 30 nm y genoma de +ssRNA; se propuso a partir de análisis filogenéticos de los genes que codifican para la replicasa y CP, y de su similitud con miembros del género *Sobemovirus*. Hasta el momento no se conoce el vector natural del virus, pero sí se ha establecido que se transmite con facilidad por medios mecánicos, que incluyen herramientas de trabajo, suelo y agua de irrigación.

Papaya ringspot virus (PRSV)

Este virus fue reportado en 1940 en Hawái y en la actualidad es importante en todas las regiones donde se cultiva papaya en el mundo, en particular en el sudeste asiático y en Latinoamérica. PRSV es una especie del género *Potyvirus* (*Potyviridae*). Sus viriones corresponden a varillas flexuosas de 760-800 nm de longitud x 12 nm de diámetro, con genoma de +ssRNA de 10,2 kb. Presenta un solo ORF que codifica para una poliproteína de 3344 aa, que es proteolíticamente clivada en 10 proteínas maduras.

Con base en el rango de hospedantes se han definido dos variantes principales del virus: PRSV-P y PRSV-W. La primera afecta tanto papaya y como cucurbitáceas, mientras que la segunda solo infecta cucurbitáceas.

Análisis filogenéticos basados en secuencias del genoma han identificado niveles de variación de hasta 14% entre aislamientos del virus.

Los síntomas de la enfermedad corresponden a mosaicos severos, clorosis y deformación de hojas (figura 229). Los pecíolos presentan rayas con apariencia aceitosa que pueden extenderse al tallo. En los frutos se generan anillos concéntricos que dan origen al nombre del virus (figura 230). Las plantas afectadas en estados tempranos de desarrollo por lo general se presentan enanas y pueden no producir frutos comercializables. Algunos aislamientos severos de PRSV causan además marchitamiento y necrosis sistémica, que conducen a su muerte prematura de las plantas.

El PRSV lo transmiten varias especies de áfidos (*Myzus persicae* y *Aphis gossypii*, entre otros) de forma no persistente; el rango de hospedantes se restringe a la familia *Caricaceae* y *Cucurbitaceae*.

Tiene también importancia económica en la producción de melones y calabazas. El PRSV puede ser transmitido por vía mecánica, pero no por semilla sexual.

El manejo del virus se fundamenta en la erradicación temprana de aquellas plantas sintomáticas, el establecimiento de regulaciones cuarentenarias para evitar movimiento de materiales infectados a zonas libres de la enfermedad y, en los últimos años, en el cultivo de variedades transgénicas resistentes. Estas últimas se generan a partir de la transformación de las plantas con copias del gen CP de cepas atenuadas del virus.

Hasta el momento no se ha identificado una fuente de resistencia natural a PRSV en *C. papaya*, pero sí en especies del género *Vasconcellea*. Sin embargo, los cruces entre *C. papaya* y *Vasconcellea* sp. resultan infértiles y, por tanto, de poca aplicación en programas de mejoramiento genético convencional.



FOTOS: Jorge Tenorio



Figura 229. Síntomas de mosaico severo con deformación de hojas de papaya infectadas con *Papaya ringspot virus* (PRSV).

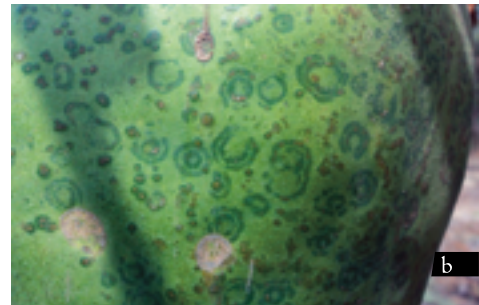


Figura 230. a. Síntomas de manchas anulares en frutos en papaya hawaiana; b. Síntomas de manchas anulares en frutos en papaya mexicana.



Virus del cultivo de cítricos (*Citrus* spp.)

Los cítricos pertenecen a la familia *Rutaceae* y al género *Citrus*. De ellos, se destacan por su aceptación comercial las siguientes especies: naranja (*Citrus sinensis*), mandarina (*Citrus reticulata*), limón (*Citrus aurantifolia*), toronja (*Citrus paradisi*) y tangelo (*Citrus paradisi* x *Citrus reticulata*), entre otras. El origen del género *Citrus* se sitúa en el sudeste de Asia y el centro de China; en Filipinas y en otras islas del Pacífico.

El cultivo comercial de los cítricos se extiende entre una franja latitudinal de 41° N y S, y son las regiones subtropicales comprendidas entre los 20° N y 40° S donde se ubican los principales países productores como: Brasil (21 %), Estados Unidos (14,5 %), China (11 %), México (6 %), los países mediterráneos e India. Las exportaciones mundiales de cítricos en fresco se concentran en España y Estados Unidos, mientras que en el comercio mundial de productos procesados se destacan Brasil, Bélgica, Holanda y Alemania.

Los rendimientos de fruta en el subtrópico oscilan entre 35 y 40 toneladas por hectárea, mientras que en el trópico, entre 13 y 22 t/ha; sin embargo, el rendimiento promedio mundial es de 15,3 t/ha. Estas diferencias se deben, entre otros aspectos, a la gran cantidad de problemas fitopatológicos que afectan la producción de cítricos en el mundo, con notable efecto deletéreo de los virus y viroides, dada la fácil dispersión de estos por medio de la propagación vegetativa que se utiliza para el establecimiento de los huertos y la eventual transmisión por vectores. Dicha situación se ve agravada por la ausencia de programas de certificación de material vegetal en diferentes países en desarrollo, a pesar de que existen esquemas de indexación bien establecidos, cuya efectividad se ha comprobado en lugares como Estados Unidos y España.

En cítricos se han detectado por lo menos ocho grupos principales de virus, incluyendo los transmitidos por áfidos: *Citrus tristeza virus* (CTV) y *Citrus vein enation virus* (especie propuesta en el género *Enamovirus*); *Citrus leprosis virus c* (CILV-c), *Cilicivirus*, transmitidos por ácaros del género *Brevipalpus* sp.; el *Citrus chlorotic dwarf-associated virus* (CCDAV) —recientemente propuesto como miembro de la familia *Geminiviridae* y cuya enfermedad fue registrada en Turquía a mediados de los años ochenta como transmitida por la especie de mosca blanca *Parabemesia myricae*—; *Satsuma dwarf virus* (SDV), (*sadwavirus* familia *Secoviridae*) cuyo vector en apariencia es habitante del suelo, y el *Citrus psorosis virus* (CPSV) (*Ophiovirus*), que viene cobrando gran notabilidad, especialmente en Brasil y otros países de Suramérica.

Dos viroides representa gran importancia económica para los cítricos: *Citrus exocortis viroid* (CEVD) y *Citrus cachexia viroid* (nombre propuesto), hasta ahora definido como una cepa de *Hop stunt viroid* (HPSVD).

Citrus tristeza virus (CTV)

La tristeza de los cítricos es la enfermedad más importante de estos frutales en el mundo, al ser responsable de la muerte de millones de árboles durante más de 70 años, cuando el CTV fue introducido desde Asia al hemisferio occidental. Su distribución está directamente asociada al método de propagación comercial de los cítricos, es decir, a la injertación y, en particular, al establecimiento masivo de huertos que utilizan como patrón la naranja agria, gracias a la tolerancia de ella a las pudriciones causadas por *Phytophthora* spp.

Su naturaleza viral fue confirmada en 1946; sin embargo, su purificación fue compleja de realizar, dada la morfología de los viriones consistentes en filamentos de gran longitud (hasta 2.000 nm).

El CTV pertenece al género *Closterovirus* (familia *Closteroviridae*), un grupo por lo general restringido al floema de las plantas y con un módulo genómico conservado que incluye cuatro ORF que codifican para proteínas involucradas en el ensamblaje de los viriones: las cápsides mayor (CP) y menor (CPM) y las proteínas p61 y p64. Los viriones son partículas flexuosas y filiformes de 12 nm de diámetro por 2.000 nm de longitud. Su genoma de +ssRNA tiene ~19,3 kb, con doce ORF expresados a partir de diversos mecanismos como poliproteína, cambio en el marco de lectura (ORF1A y ORF1B) y sgrNA (ORF 2 a 11).

{ 288 }

El ORF 1a codifica para una poliproteína con dominios de proteasa, Mtr y Hel, mientras que el ORF 1b se traduce por lectura continua +1 para generar la replicasa viral. El ORF 2 codifica para una proteína de función desconocida denominada p33. Los ORF 3 a 7 constituyen el bloque genómico característico de los closterovirus, que codifican para una proteína hidrofóbica de 6 kDa (ORF 3) involucrada en el movimiento sistémico del virus en las plantas; una proteína homóloga a proteínas *heat-shock celulares* (HSP70h) (ORF 4); la proteína de 61 kDa (ORF 5); la cápside menor (ORF 6), y la cápside principal (ORF 7), que además se cree que actúa como supresor del silenciamiento de genes en el hospedante. Los ORF 8 y 9 codifican para las proteínas p18 y p13, respectivamente, ambas de función desconocida, mientras que el ORF10 lo hace para p20, otra proteína supresora de silenciamiento de genes. Por último, el ORF 11 codifica para p23, que es una proteína multifuncional que en apariencia regula la síntesis de RNA y también la supresión del silenciamiento de genes.

Se han encontrado numerosas cepas de CTV que presentan gran variación en su forma de transmisión y en sus reacciones patogénicas con los hospedantes. La transmisión natural ocurre por diferentes especies

de áfidos, en forma semipersistente (*Aphis gossypii*, *A. citricola*, por ejemplo), y es el áfido negro de los cítricos *Toxoptera citricida* el más eficiente. El CTV también se transmite por injerto y por medios mecánicos. Este virus infecta todas las especies, cultivares e híbridos de cítricos, así como algunas plantas taxonómicamente relacionadas como: *Aeglopsis chevalieri*, *Fortunella* sp. y *Pamburus missionis*, entre otras. Se ha reportado que las especies de *Passiflora* son los únicos hospedantes de plantas no rutáceas infectadas en forma natural y experimental por el CTV.

Los síntomas que induce CTV en sus hospedantes son muy variados y dependen de la especie y variedad del cítrico afectado. Así, por ejemplo, casi siempre, los mandarinos son tolerantes, mientras que el naranjo dulce, limón rugoso y naranjo agrio no presentan síntomas. Los más susceptibles son la naranja lima, el pomelo y diferentes híbridos de naranjos dulces. Los síntomas incluyen el deterioro general de las plantas, síndrome caracterizado por el amarillamiento del follaje, reducción en el tamaño de los frutos, enanismo, reducción en el número de raíces activas, marchitamiento y, finalmente, la muerte de los árboles. Es posible también observar la presencia de aclaramiento de venas en algunos cítricos, así como la muerte del tejido del floema en proximidades a la unión de la yema, cuando los árboles fueron propagados por injertación.

Existen cepas severas de CTV que causan además orificios (*Stem pitting*) y acanaladuras en los tallos, síntomas asociado con enanismos severos y reducción considerable de la producción (figura 231). Las células del floema infectadas por lo general presentan inclusiones fibrilares que consisten en agregados de partículas virales y vesículas membranosas.

El control del CTV se fundamenta en el establecimiento de programas efectivos de regulación cuarentenaria y en la certificación por sanidad viral de materiales de propagación que prevenga las infecciones primarias. También se han realizado intensos esfuerzos para la erradicación de plantas enfermas, lo que representa

FOTOS: JAVIER ORDUZ Y HEBERTH VELÁSQUEZ



Figura 231. a. Síntomas de clorosis y decaimiento general de un árbol cítrico; b. Acanaladuras en tallo de lima Tahití causados *Citrus tristeza virus* (CTV).

enormes costos económicos. Algunos patrones tolerantes a CTV son susceptibles a marchitez o a pudriciones por *Phytophthora* spp., lo que dificulta la siembra en diferentes regiones.

Se ha utilizado la protección cruzada con cepas *tenues* de CTV para proteger a los árboles de aquellas infecciones causadas por variantes severas asociadas a *stem pitting*. Esta práctica ha sido ampliamente empleada en Brasil en huertos de pomelo; sin embargo, es poco eficiente para prevenir infecciones con aislamientos que causan un rápido deterioro de las plantas. Para terminar, se ha encontrado una fuente de resistencia a CTV en *Poncirus trifoliata*, mediada por el gen dominante *ctv*, lo que abre posibilidades futuras para la generación de materiales resistentes por mejoramiento convencional o por transgénesis.

Citrus psorosis virus (CPsV)

La psorosis es una enfermedad de distribución mundial que afecta los cítricos; causa pérdidas anuales estimadas en 5% de la producción y el deterioro progresivo de los huertos, dada la afeción del sistema vascular de los árboles. Aunque la enfermedad ha sido observada en Florida y California desde los años ochenta, solo fue hasta inicios de la década de 1990 que se confirmó su naturaleza viral y se detectó su presencia en países del Mediterráneo europeo y africano y en el continente americano.

Las especies de cítricos más afectadas por la enfermedad son la naranja dulce, el pomelo y la mandarina,

mientras que en plantas como la naranja agria y el limón es usual que no se presenten síntomas en los tallos, pero sí en las hojas.

El agente causal, el CPsV, es la especie tipo del género *Ophiovirus* de la familia *Ophioviridae*; tiene genoma de ssRNA (ambisentido) segmentado en tres moléculas de 8184 nt, 1644 nt y 1454 nt, para un total de ~11,3 kb. Cada segmento de ssRNA se encapsida por separado y da origen a viriones filamentosos de 3 nm de diámetro con longitudes variables (~760 nm) y una configuración circular retorcida (aunque se puede presentar en configuraciones pseudolineales).

El RNA 1 del virus contiene un ORF en su cadena complementaria que codifica para la RdRp y posiblemente un segundo ORF pequeño de función hasta ahora desconocida. El RNA 2 también tiene un ORF en la cadena complementaria que codifica para una proteína putativa de 54 kDa que presenta una secuencia señal de localización nuclear (NLS) y parece que cuenta con un segundo ORF en la cadena con sentido, aunque todavía no se ha confirmado su funcionalidad. Por último, el RNA 3 codifica para la CP de 48 kDa, también en la cadena complementaria. Los extremos 3'-UTR de los tres segmentos tienen secuencias similares, mientras que los 5'-UTR son bastante diferentes.

La psorosis se transmite por injerto y sus síntomas característicos consisten en la descamación de secciones de la corteza de troncos y ramas principales en árboles

adultos (~10-12 años de edad) o la pérdida generalizada de la corteza, aún en ramas secundarias de árboles jóvenes (figura 232). Al primer caso se le denomina psorosis A (PSA), mientras que la forma más agresiva se denomina como PSB. Internamente los tejidos afectados presentan manchas irregulares de color marrón, por lo común impregnadas con gomas exudadas por el hospedante. Las plantas afectadas comienzan a defoliar por secciones hasta alcanzar la totalidad de las ramas, dada la oclusión por la goma de los haces de xilema. Es posible también que sobre el haz de las hojas viejas se presenten manchas cloróticas que corresponden en el envés con pústulas de aspecto gomoso.

Estudios recientes sugieren que el virus podría tener como vector un microorganismo habitante del suelo; se ha propuesto una especie de *Olpidium*, lo que coincidiría con otros registros de ophiiovirus (como *Lettuce ring necrosis virus* y *Mirafiori lettuce big-vein virus*) transmitidos por chytridiomycetes. Sin embargo, esto requiere ser confirmado en el futuro próximo.

{ 290 } El manejo de la psorosis de los cítricos se fundamenta en la obtención de material de siembra libre del virus a través de procesos de certificación de plantas madre, sistemas de microenjertación y de propagación *in vitro* de materiales vegetales. Es habitual complementar lo anterior con el uso de termoterapia (35 a 54°C) cuando las variedades son tolerantes al calor como en lima rangpur, naranja trifoliada, pero no en naranja dulce o limón rugoso.

El establecimiento de programas estatales cuarentenarios son fundamentales para el manejo de la enfermedad y de otras de origen viral en cítricos, dado el gran intercambio internacional e interregional de material de propagación. En los últimos años también se ha incrementado el número de ensayos que buscan transformar las plantas con genes defectivos del virus para generar líneas transgénicas. Así, por ejemplo, se han obtenido líneas de naranja dulce con copias parciales de CP, 54K y 24K, y se ha demostrado que las plantas con integración del gen CP consistentemente presentaron menores niveles de título viral y de desarrollo de síntomas en comparación con las modificadas con los otros dos genes.

Leprosis de los cítricos (CILV-C y CILV-N)

La leprosis de los cítricos es una enfermedad de gran importancia económica en Brasil y otros países de América como Paraguay, Uruguay, Argentina (donde es endémica), además en Bolivia, Venezuela, Colombia, Panamá, Costa Rica, Nicaragua, Guatemala, Honduras, El Salvador y México. A pesar de ser originalmente reportada en el estado de Florida en EE. UU., en 1860, con el nombre de *Scales bark*, en ese país aún no es un problema fitopatológico, aunque sí representa un gran riesgo cuarentenario.

El CILV tiene la particularidad de ser transmitido por ácaros del género *Brevipalpus* (Acari: *Tenuipalpidae*),



Figura 232. Síntomas de psorosis causada por *Citrus psorosis virus* (CPSV) en plantas de tangelo minneola.

por lo que su manejo se fundamenta en el control de esos vectores; se estima que la situación representa en Brasil un costo de 80 millones de dólares al año.

La leprosis la causan dos especies de virus: *Citrus leprosis virus N* (ciLV-N) y *Citrus leprosis virus C* (ciLV-C), definidos así por los efectos citopatológicos que causan (N = nuclear, C = citoplasmático). El primero induce inclusiones en el núcleo de sus hospedantes, es un miembro del género propuesto Dichorhabdovirus y rara vez reportado en los huertos de cítricos. El ciLV-C, por su parte, es la especie más agresiva, se reporta con frecuencia y se caracteriza por la localización en viroplasma en el retículo endoplasmático de las células infectadas. Dada su morfología bacilar y su presencia en citoplasma, se consideraba que este virus estaba asociado a los cytorhabdovirus de plantas; sin embargo, su secuenciación indicó la naturaleza de su genoma bipartita y de +ssRNA (en lugar de ser -ssRNA y monopartita como los rhabdovirus). Además, su genoma presenta similitud en las secuencias que codifican para RdRp y MP con virus de varillas rígidas como furovirus, tobamovirus y hordeivirus. Por estas razones fue incluido en el IX Reporte de ICTV como la especie tipo del nuevo género *Cilevirus*, en el que también se han propuesto recientemente las especies *Ligustrum ringspot virus* (LigrSV), *Solanum violae-folium ringspot virus* (svrSV) y *Passion fruit green spot virus* (PFGSV).

El ciLV-C presenta viriones baciliformes sin envoltura externa de 120-130 por 50-55 nm, con dos moléculas de +ssRNA de 8745 nt (RNA 1) y 4986 nt (RNA 2). Estos segmentos son poliadenilados en el extremo 3' y contienen una caperuza en el 5'; además, la región UTR de este extremo presenta la secuencia conservada GAUAAAUUCU. El ORF 1 del RNA 1 codifica para una poliproteína involucrada en la replicación del virus, al contener motivos conservados para Mtr, cisteín-proteasa, Hel y RdRp; el ORF 2 de ese segmento codifica para una proteína de 29 kDa con baja similitud con CP de alphavirus. El RNA 2 tiene cuatro ORF; el primero, segundo y cuarto codifican para proteínas putativas de función desconocida

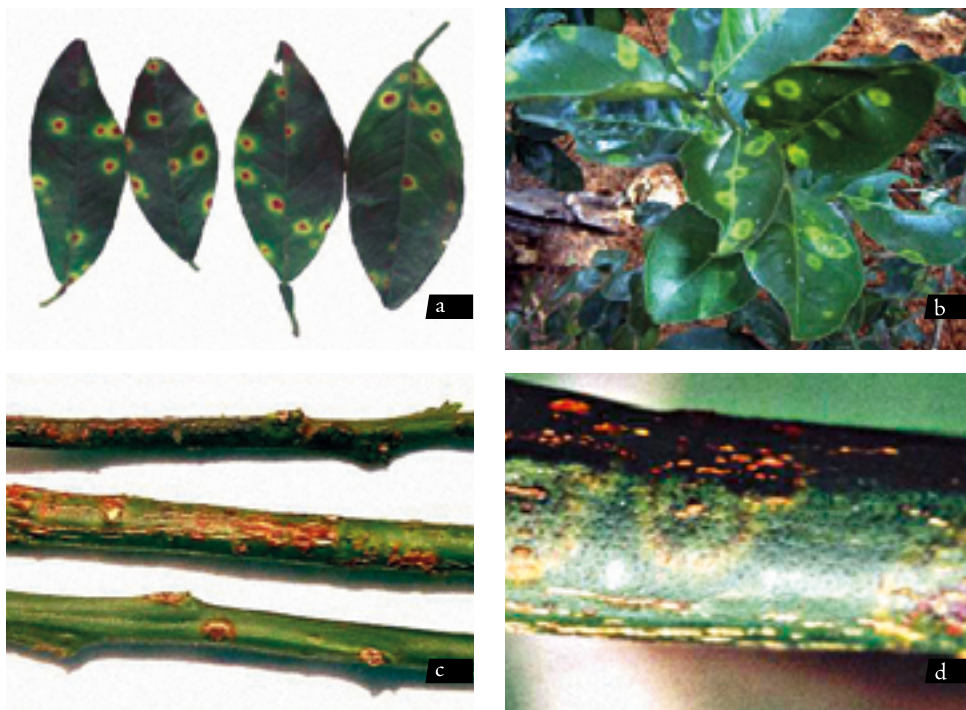
(15 kDa, 61 kDa y 24 kDa, respectivamente), mientras que el tercero lo hace para una proteína de movimiento de 32 kDa. El ciLV-C expresa sus genomas a partir de la mencionada poliproteína (para ORF 1) y de la estrategia de sgrNA para los demás ORF.

Los síntomas que induce ciLV-C se caracterizan por manchas foliares cloróticas o necróticas con formas circulares o elípticas y centros de color más oscuro, incluso del tipo mancha anular, que con frecuencia convergen y forman anillos lisos o rugosos; es usual que estén delimitados por nervaduras, aunque algunos pueden ocupar toda la superficie foliar. Sobre las ramas también se pueden presentar manchas cloróticas circulares que se transforman en lesiones corchosas de colores café oscuro y que en estados avanzados se podrían confundir con la psorosis (figura 233).

En los frutos, la leprosis aparece como pequeñas manchas cloróticas o pardas, por lo común con el centro necrótico y deprimido (figura 234). En estados avanzados de la enfermedad, las manchas se pueden fundir y se presenta un anillo de mayor tamaño cuyo aspecto afecta la comercialización, aunque no se altera la calidad del jugo. En los árboles afectados también es frecuente encontrar defoliación prematura e intensa, decaimiento y, por último, la muerte de las plantas. Los cultivares más aquejados son los naranjos dulces, el naranjo agrio, el citrange Troyer, el mandarino Cleopatra e híbridos de limón, y ocasionalmente perjudica a los mandarinos Ponkan y Cravo. Por otra parte, el Tangor Murcott, las toronjas y Shaddocks, así como los cidros, son tolerantes. El ciLV-C infecta experimentalmente, además de cítricos, a *Hibiscus rosa-sinensis*, *Malva-viscos arboreus*, *Commelina* spp., *Grevillea robusta* y *Solanum violae-folium*.

Tal como se indicó, los vectores del ciLV-C son ácaros especialmente *B. obovatus* y *B. phoenicis*, que transmiten el virus de forma persistente pero no propagativa; las larvas son más eficientes para la transmisión que las ninfas y adultos, dada su mayor

foros: (a, c, d) Elliot Watanabe Kitajima (b) Javier Ordúz y Juan Carlos Campos



{ 292 }

Figura 233. Síntomas causados por *Citrus leprosis virus c* (ciLV-c) y *Citrus leprosis virus N* (ciLV-N) en cítricos. a. Manchas con centros necróticos causados por ciLV-N en hojas de naranja dulce; b. Manchas circulares cloróticas con centros verdes causadas por ciLV-c en naranja Valencia; c-d. Manchas cloróticas y corchosas sobre ramas de naranja dulce.

foros: Elliot Watanabe Kitajima

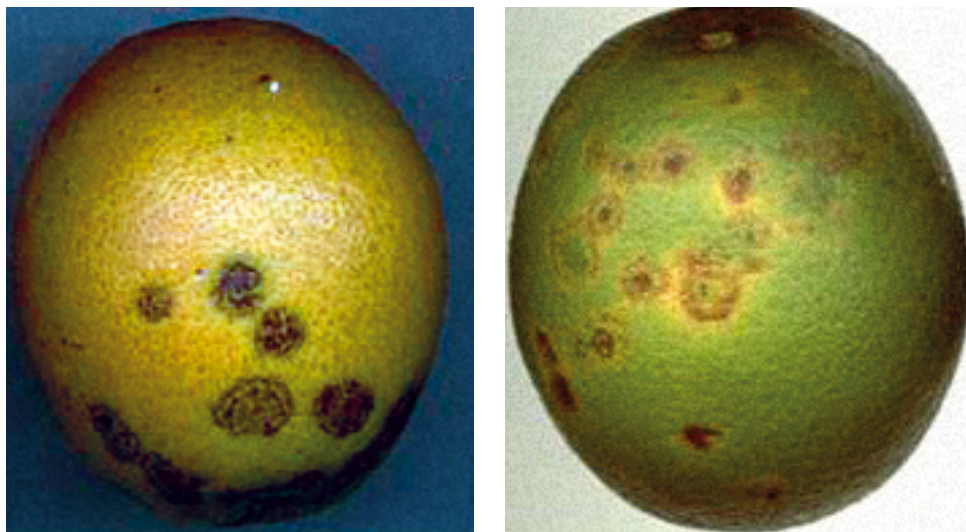
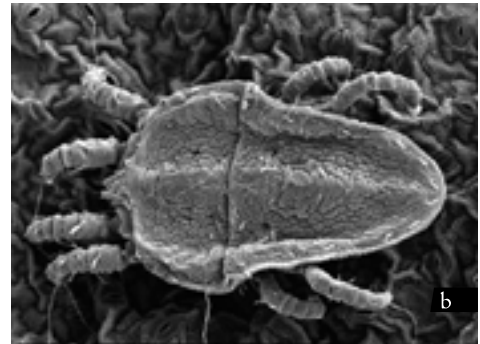
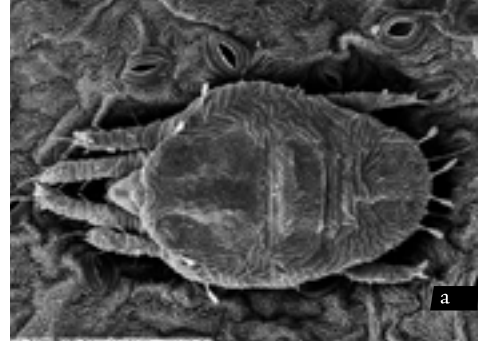


Figura 234. Síntomas de manchas necróticas causados por *Citrus leprosis virus c* (ciLV-c) y *Citrus leprosis virus N* (ciLV-N) en frutos de naranja Valencia y naranja pera.

movilidad (figura 235). El cilv-c también se transmite de forma mecánica a plantas indicadoras como *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa* y *Gomphrena globosa*, así como también se pueden detectar ácaros virulíferos en evaluaciones sobre plántulas de frijol, en las que se presentan lesiones locales. El control de la leprosis de los cítricos se fundamenta en la instauración de programas de certificación de material de propagación y de sistemas cuarentenarios eficaces que impidan la llegada y establecimiento del virus en regiones no afectadas.

En zonas con registros de la enfermedad, es necesario realizar un control estricto de las poblaciones de los vectores mediante aplicaciones de acaricidas y programas de control biológico que permitan el aumento de sus enemigos naturales como, por ejemplo, los ácaros predadores de la familia *Phytoseiidae*. También se recomiendan prácticas culturales que disminuyan las fuentes de inóculo, como podas de material vegetal sintomático, utilización de barreras vivas que eviten la llegada masiva de vectores y el control al acceso a personas, equipos y herramientas a los huertos sanos.



FOTOS: Ellior Watanabe Kitajima

Figura 235. a. Microscopía electrónica de barrido de *Brevipalpus phoenicis*, el vector de *Citrus leprosis virus C* { 293 } (cilv-c). a. Larva; b. Adulto





Los autores

Mauricio A. Marín Montoya

mamarinm@unal.edu.co

Ingeniero agrónomo de la Universidad Nacional de Colombia, MSc en Fitopatología de la Universidad de Caldas (Colombia) y PhD en Fitopatología de la Universidad de Pretoria (Sudáfrica), con énfasis en microbiología molecular. Es profesor asociado de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín y director del Laboratorio de Procesos Moleculares. Actualmente su investigación se centra en la utilización de métodos moleculares para la detección, caracterización y manejo de microorganismos fitopatógenos. En el campo de la virología vegetal ha desarrollado diversos proyectos de genómica y detección asintomática de virus de RNA, utilizando métodos moleculares convencionales y de nueva generación. Es profesor de las asignaturas de Microbiología general, Microbiología molecular, Biología celular y molecular y Microbiología agrícola, entre otras.

Pablo A. Gutiérrez Sánchez

paguties@unal.edu.co

Biólogo de la Universidad de Antioquia (Colombia), PhD en Bioquímica de la Universidad McGill (Canadá), con énfasis en Biología estructural. Es profesor asociado y director del Laboratorio de Microbiología Industrial de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín y coordinador del Grupo de Investigación de Biotecnología Microbiana. Actualmente su investigación se centra en la aplicación de métodos computacionales para la identificación y caracterización de virus fitopatógenos, incluyendo secuenciación de nueva generación, modelación estructural y dinámica molecular. Es profesor de cursos en Bioinformática, Estructura de biomoléculas y Métodos en biología celular, entre otros.



Bibliografía

- Abel PP, Nelson RS, De B, Hoffmann N, Rogers SG, Fraley RT, Beachy RN. 1986. Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. *Science*. 232(4751):738-743.
- Abu-Ahmad Y, Royer M, Daugrois J.H, Costet L, Lett JM, Victoria JI, Girard JC, Rott P. 2006. Geographical distribution of four *Sugarcane yellow leaf virus* genotypes. *Plant Dis*. 90(9):1156-1160.
- Abubakar Z, Ali F, Pinel A, Traoré O, N'Guessan P, Notteghem JL, Kimmins F, Konaté G, Fargette D. 2003. Phylogeography of *Rice yellow mottle virus* in Africa. *J Gen Virol*. 84(Pt 3):733-743.
- Adams MJ, Antoniw JF, Fauquet CM. 2005. Molecular criteria for genus and species discrimination within the family *Potyviridae*. *Arch Virol*. 150(3):459-79.
- Agranovsky AA, Koonin EV, Boyko VP, Maiss E, FroTschul R, Lunina N, Atabekov JG. 1994. Beet yellows closterovirus: complete genome structure and identification of a leader papain-like thiol protease. *Virology* 198(1):311-24.
- Agrios G. 2005. *Plant Pathology*. Quinta edición. Boston: Elsevier Academic Press.
- Association of Applied Biologists. s. f. Description of plant viruses (DVP). [consultado 2011-2015]. <http://www.dpvweb.net/>.
- Astier S, Abouy J, Maury Y, Robaglia C, Lecoq H. 2007. *Principles of Plant Virology: Genome, Pathogenicity, Virus, Ecology*. Enfield: Science Publisher.
- Bashir NS, Kalhor MR, Zarghani SN. 2006. Detection, differentiation and phylogenetic analysis of cucumber mosaic virus isolates from cucurbits in the northwest region of Iran. *Virus Genes*. 32(3):277-288.
- Bertolini E, Moreno A, Capote N, Olmos A, de Luis A, Vidal E, Pérez-Panadés J, Cambra M. 2008. Quantitative detection of *Citrus tristeza virus* in plant tissues and single aphids by real-time RT-PCR. *Eur J Plant Pathol*. 120:177-188.
- Brunt A, Crabtree K, Dallwitz MJ, Gibbs AJ, Watson L, Zurcher EJ, eds. 1996. *Plant virus online: Descriptions and list from the VIDE Database*. [consultado 2014 jun 15]. <http://image.fs.uidaho.edu/viderefs.htm>.
- Cassalett C, Torres J, Isaacs C (eds.). 1995. *El cultivo de la caña de azúcar en la zona azucarera de Colombia*. Cali: Cenicaña.

- Cerovska N, Pecenkova T, Filigarová M, Dedic P. 2007. Sequences analysis of the Czech *Potato mop-top virus* (PMTV) isolate Korneta-Nemilkov. *Folia Microbiol.* 52(1):61-64.
- Chare E, Holmes E. 2004. Selection pressures in the capsid genes of plant RNA viroes reflect mode of transmission. *J Gen Virol.* 85:3149-3157.
- Clark MF, Adams, AM. 1977. Characteristics of microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J Gen Virol.* 34(3):475-483.
- Codoner F, Cuevas J, Sánchez-Navarro J, Pallás V, Elena S. 2005. Molecular evolution of the plant virus family *Bromoviridae* based on RNA-3 encoded proteins. *J Mol Evol.* 61(5):697-705.
- Colvin J, Omongo C, Maruthi M, Otim-Nape G, Thresh J. 2004. Dual begomovirus infections and high *Bemisia tabaci* populations: two factors driving the spread of a cassava mosaic disease pandemic. *Plant Pathol.* 53(5):577-584.
- Coutts BA, Jones RAC. 2002. Temporal dynamics of spread of four viruses within mixed species perennial pastures. *Ann Appl Biol.* 140(1):37-52.
- Cox BA, Jones RA. 2010. Genetic variability in the coat protein gene of *Potato virus S* isolates and distinguishing its biologically distinct strains. *Arch Virol.* 155(7):116-1169.
- { 298 } Cox BA, Jones RA. 2010. Genetic variability in the coat protein gene of *Potato virus X* and the current relationship between phylogenetic placement and resistance groupings. *Arch Virol.* 155(8):1349-1356.
- Dallot S, Acuña P, Rivera C, Ramirez P, Côte F, Lockhart BE, Caruana ML. 2001. Evidence that the proliferation stage of micropropagation procedure is determinant in the expression of *Banana streak virus* integrated into the genome of the FHIA 21 hybrid (*Musa AAAB*). *Arch Virol.* 146(11):2179-2190.
- De Blas C, Borja MJ, Saiz M, Romero J. 1994. Broads detection of *Cucumber mosaic virus* (CMV) using the Polymerase Chain Reaction. *J Phytopathol.* 141(1):323-329.
- De La Torre AR, Cervantes L, Houston H, Valverde RA. 2002. Variación fenotípica de algunos aislamientos mexicanos del virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV). *Agrociencia.* 36(2): 211-221.
- Engelmann J, Hamacher J. Plant virus diseases: Ornamental Plants. 2010. En: van Regenmortel MHV, Mahy BWJ, editores. *Desk Encyclopedia of Plant and Fungal Virology*. Boston, Oxford: Academic Press. pp. 436-457.
- Fargette D, Konaté G, Fauquet C, Muller E, Peterschmitt M, Thresh JM. 2006. Molecular Ecology and Emergence of Tropical Plant Viruses. *Annu Rev Phytopathol.* 44:235-260.

- Fauquet C, Fargette D. 1990. *African cassava mosaic virus*: etiology, epidemiology and control. Plant Dis. 74(6):404-411.
- Fauquet C, Stanley J. 2003. Geminivirus classification and nomenclature: progress and problems. Ann Appl Biol. 142(2):165-189.
- Fauquet C, Mayo M, Maniloff J, Desselberger U, Ball L (eds.). 2004. Virus Taxonomy, viiiith Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Londres: Elsevier.
- Fondong VN, Pita JS, Rey ME, de Kochko A, Beachy RN, Fauquet CM. 2000. Evidence of synergism between *African cassava mosaic virus* and the new double recombinant geminivirus infecting cassava in Cameroon. J Gen Virol. 81(Pt 1):287-297.
- Fujisaki K, Ishikawa M. 2008. Identification of an *Arabidopsis thaliana* protein that binds to *Tomato mosaic virus* genomic RNA and inhibits its multiplication. Virology. 380(2):402-411.
- García-Arenal F. 2000. Estructura y expresión del genoma de los virus de plantas. En: Llácer G, López MM, Trapero A, Bello A, editores. Patología Vegetal. Madrid: Mundiprensa. pp. 37-75.
- Garrido MJ, Trujillo GE. 2000. Pruebas de transmisión mecánica con el virus del bandeo amarillo del sorgo (SYBV). Rev Fac Agron (LUZ). 17:269-281.
- Geering A, McMichael L, Dietzgen R, Thomas J. 2000. Genetic diversity among *Banana streak virus* { 299 } isolates from Australia. Phytopathology. 90(8):921-927.
- Gibbs AJ, Mackenzie AM, Wei KJ, Gibbs MJ. 2008. The potyviruses of Australia. Arch Virol. 153(8):1411-1420.
- Gil J, Gutiérrez P, Cotes J, González P, Marín M. 2011. Caracterización genotípica de aislamientos volombianos del *Potato mop-top virus* (PMTV, *Pomovirus*). Actual Biol. 33(94):69-84.
- Gonçalves MC, Pinto LR, Souza SC, Landell MGA. 2012. Virus diseases of sugarcane. A constant challenge to sugarcane breeding in Brazil. Funct Plant Sci Biotechnol. 6(2):108-116.
- Gonçalves MC, Santos AS, Maia IG, Chagas CM, Harakava R. 2007. Characterization of an isolate of Sugarcane mosaic virus breaking down resistance of commercial sugarcane varieties. Fitopatol Bras. 32(1):32-39.
- Gonçalves CM, Vega J, Oliveira GJ, Gomes MAM. 2005. *Sugarcane yellow leaf virus* infection leads to alterations in photosynthetic efficiency and carbohydrate accumulation in sugarcane leaves. Fitopatol Bras. 30(1):10-16.
- Groves RL, Walgenbach JF, Moyer JW, Kennedy GG. 2002. The role of weed hosts and tobacco thrips, *Frankliniella fusca*, in the epidemiology of *Tomato spotted wilt virus*. Plant Dis. 86(6):573-582.

Gunn LV, Pares RD. 1990. Capsicum Yellows. A Disease Induced by a *Luteovirus* in Glasshouse Peppers (*Capsicum annuum*) in Australia. J Phytop. 129(3):210-216.

Guyader S, Ducray DG. 2002. Sequence analysis of *Potato leafroll virus* isolates reveals genetic stability, major evolutionary events and differential selection pressure between overlapping reading frame products. J Gen Virol. 83(Pt 7):1799-1807.

Harper G, Hart D, Moulton S, Hull R, Geering A, Thomas J. 2005. The diversity of *Banana streak virus* isolates in Uganda. Arch Virol. 150(12):2407-2420.

Hibino H. 1996. Biology and epidemiology of rice viruses. Annu Rev Phytopathol. 34:249-274.

Holmes FO. 1946. A comparison of the experimental host ranges of Tobacco-etch and Tobacco-mosaic viruses. Phytopathology. 36(8):643-659.

Hsu HT, Barzuna L, Hsu YH, Bliss W, Perry KL. 2000. Identification and Subgrouping of *Cucumber mosaic virus* with Mouse Monoclonal Antibodies. Phytopathology. 90(6):615-620.

Hsu YC, Yeh TJ, Chang YC. 2005. A new combination of RT-PCR and reverse dot blot hybridization for rapid detection and identification of potyviruses. J Virol Methods. 128(1-2):54-60.

Hull R. 2002. Mathew's Plant virology. Cuarta edición. Nueva York: Elsevier Academic.

{ 300 }

Hull R. 2009. Comparative Plant virology. Segunda edición. Nueva York: Academic Press.

Hull R. 2014. Plant Virology. Quinta edición. Nueva York: Elsevier Academic Press.

[ICTV] International Committee on Taxonomy of Viruses. 2012. Virus Taxonomy. [consultado 2013 jun 10]. <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>

Ivars P, Alonso M, Borja M, Hernández C. 2004. Development of a non-radioactive dot-blot hybridisation assay for the detection of *Pelargonium flower break virus* and *Pelargonium line pattern virus*. Eur J Plant Pathol. 110(3):275-283.

Jones RAC. 2001. Developing Integrated Disease Management Strategies Against Non-Persistently Aphid-Borne Viruses: A Model Program. Integra Pest Man Rev. 6(1):15-46.

Jones DR. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. Eur J Plant Pathol. 109(3):195-219.

Jones RA. 2004. Using epidemiological information to develop effective integrated virus disease management strategies. Virus Res. 100(1):5-30.

Jones RA. 2006. Control of plant virus diseases. Adv Virus Res. 67:205-244.

- Jones RA. 2009. Plant virus emergence and evolution: Origins, new encounter scenarios, factors driving emergence, effects of changing world conditions, and prospects for control. *Virus Res.* 141(2): 113-130.
- Keese P, Martin RR, Kawchuk LM, Waterhouse PM, Gerlach WL. 1990. Nucleotide sequences of an Australian and a Canadian isolate of potato leafroll luteovirus and their relationships with two European isolates. *J Gen Virol.* 71(Pt 3):719-724.
- Khan JA, Dijkstra J. 2006. *Handbook of Plant Virology*. Nueva York: CRC Press.
- King, AMQ, Adams, MJ, Carstens, EB, Lefkowitz, EJ (eds.). 2012. *Virus taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Elsevier Academic Press.
- Köppen W. 1948. *Climatología. Con un estudio de los climas de la tierra*. México DF: Fondo de Cultura Económica.
- Kreuze JF, Savenkov EI, Valkonen JPT. 2002. Complete genome sequence and analysis of the subgenomic RNAs of *sweet potato chlorotic stunt virus* reveal several new features for the genus *Crinivirus*. *J Virol.* 76(18):9260-9270.
- Lambert DH, Levy L, Mavrodieva VA, Johnson SB, Babcock MJ, Vayda ME. 2003. First Report of *Potato mop-top virus* on Potato from the United States. *Plant Dis.* 87(7):872.
- Ledesma-Jimeno M. 2011. *Principios de meteorología y climatología*. Madrid: Ed. Paraninfo.
- Lefevre P, Martin DP, Hoareau M, Naze F, Delatte H, Thierry M, Varsani A, Becker N, Reynaud B, Lett JM. 2007. Begomovirus 'melting pot' in the south-west Indian Ocean islands: molecular diversity and evolution through recombination. *J Gen Virol.* 88(Pt 12):3458-3468.
- Livieratos IC, Muller G, Salazar LF, Eliasco E, Coutts RHA. 2002. Identification and Sequence Analysis of *Potato yellow vein virus* Capsid Protein Minor Gene. *Virus Genes.* 25(3):317-322.
- Livieratos IC, Eliasco E, Müller G, Olsthoorn RC, Salazar LF, Pleij CW, Coutts RH. 2004. Analysis of the RNA of *Potato yellow vein virus*: evidence for a tripartite genome and conserved 3'-terminal structures among members of the genus *Crinivirus*. *J Gen Virol.* 85(Pt 7):2065-2075.
- Loebenstein G, Thottappilly G. 2004. *Virus and Virus-Like Diseases of Major Crops in Developing Countries*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Loebenstein, G. Plant virus diseases: Economic aspects. 2010. En: Mahy BWJ, van Regenmortel MHV, editores. *Desk Encyclopedia of Plant and Fungal Virology*. Nueva York: Academic Press. pp. 426-430.
- Luria SE, Darnell JE, Baltimore D, Campbell A. 1978. *General Virology*. Tercera edición Nueva Jersey: John Wiley & Sons.

- Mackenzie DJ, Tremaine JH, Stace-Smith R. 1989. Organization and interviral homologies of the 3'-terminal portion of *Potato Virus S* RNA. J Gen Virol. 70(Pt 5):1053-1063.
- Mahy B, van Regenmortel M (eds.). 2010. Desk encyclopedia of plant and fungal virology. Nueva York: Academic Press.
- Magenya OEV, Mueke J, Omwega C. 2008. Significance and transmission of maize streak virus disease in Africa and options for management: A review. African J Biotech. 7(25):4897-4910.
- Makkouk KM, Hsu HT, Kumari SG. 1993. Detection of Three Plant Viruses by Dot-Blot and Tissue-Blot Immunoassay Using Chemiluminescent and Chromogenic Substrates. J Phytop. 139(2):97-102.
- Makkouk KM, Kumari SG. 2002. Low-cost paper can be used in tissue-blot immunoassay for detection of cereal and legume viruses. Phytopathol Mediterr. 41:275-278.
- Maoka T, Sugiyama S, Maruta Y, Hataya T. 2010. Application of cDNA Macroarray for Simultaneous Detection of 12 Potato Viruses. Plant Dis. 94(10):1248-1254.
- Más P., Pallas V. 1995. Non-isotopic tissue-printing hybridization: a new technique to study long-distance plant virus movement. J Virol Methods. 52(3):317-326.
- Mason G, Roggero P, Tavella L. 2003. Detection of *Tomato spotted wilt virus* in its vector *Frankliniella occidentalis* by reverse-transcription polymerase chain reaction. J Virol Methods. 109(1):69-73.
- Maroušek J, Schubert J, Dědič P, Práček J. 2000. A broad variability of *Potato virus S* (pvs) revealed by analysis of virus sequences amplified by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. Can J Plant Pathol. 22(1):29-37.
- Maroušek J, Schubert J, Práček J, Kozlová P, Dědič P. 2004. Complete nucleotide sequence and molecular probing of *Potato virus S* genome. Acta Virol. 49(3):195-205.
- Matthews REF, editor. 1993. Diagnosis of plant virus diseases. Boca Ratón, Florida: CRC Press.
- Maude RB. 1996. Seedborne diseases and their control. Principles and Practice. Londres: CAB international.
- Mayo M, Ryabov E, Fraser G, Taliansky M. 2000. Mechanical transmission of *Potato leafroll virus*. J Gen Virol. 81(Pt 11):2791-2795.
- Mayo MA, Torrance L, Cowan G, Jolly CA, Macintosh SM, Orrega R, Barrera C, Salazar LF. 1996. Conservation of coat protein sequence among isolates of *Potato mop-top virus* from Scotland and Peru. Arch Virol. 141(6):1115-1121.
- Mcgeachy KD, Barker H. 2000. *Potato mop-top virus* RNA can move long distance in the absence of coat protein: Evidence from resistant, transgenic plants. Mol Plant Microbe Interact. 13(1):125-128.

- Moonan F, Mirkov TE. 2002. Analyses of genotypic diversity among North, South, and Central American isolates of *Sugarcane yellow leaf virus*: Evidence for Colombian origins and for intraspecific spatial phylogenetic variation. *J Virol*. 76(3):1339-1348.
- Morales FJ, Anderson PK. 2001. The emergence and dissemination of whitefly-transmitted geminiviruses in Latin America. *Arch Virol*. 146(3):415-441.
- Morales FJ, Jones PG. 2004. The ecology and epidemiology of whitefly-transmitted viruses in Latin America. *Virus Res*. 100(1):57-65.
- Morales FJ. 2006. History and current distribution of begomoviruses in Latin America. *Adv Virus Res*. 67:127-162.
- Morris TJ, Dodds JA. 1979. Isolation and analysis of double-stranded RNA from virus-infected plant and fungal tissue. *Phytopathology*. 69(8):854-858.
- Mumford RA, Barker I, Wood KR. 1996. The Biology of the Tospoviruses. *Ann Appl Biol*. 128(1):159-183.
- Nicolaisen M. 2011. An oligonucleotide-based microarray for detection of plant RNA viruses. *J Virol Methods*. 173(1):137-143.
- Nie X, Singh RP. 2001. A novel usage of random primers for multiplex RT-PCR detection of virus and viroid in aphids, leaves, and tubers. *J Virol Methods*. 91(1):37-49.
- Okuda M, Hanada K. 2001. RT-PCR for detecting five distinct Tospovirus species using degenerate primers and dsRNA template. *J Virol Methods*. 96(2):149-156.
- Orke EC, Dehne HW, Schönbeck F, Weber A. 1994. Crop production and crop protection: Estimated losses in major food and cash crops. Amsterdam: Elsevier.
- Palukaitis, P, Carr JP. 2008. Plant resistance responses to viruses. *J Plant Pathol*. 90(2):153-172.
- Raccach B, Roistacher CN, Barbagallo S. 1989. Semipersistent Transmission of Viruses by Vectors with Special Emphasis on *Citrus Tristeza Virus*. *Adv Dis Vector Res*. 6:301-340.
- Riechmann, JL, Laín S, García JA. 1992. Highlights and prospects of potyvirus molecular biology. *J Gen Virol*. 73(Pt 1):1-16.
- Riechmann JL, Cervera MT, García JA. 1995. Processing of the plum pox virus polypeptide at the P3-6K1 junction is not required for virus viability. *J Gen Virol*. 76(Pt 4):951-956.
- Rocha-Peña MA, Lee RF, Lastra R, Niblett CL, Ochoa-Corona FM, Garnsey SM, Yokomi RK. 1995. Citrus tristeza virus and its aphid vector *Toxoptera citricida*. Threats to citrus production in Caribbean and Central and North America. *Plant Dis*. 79(5):437-445.

- Rott ME, Tremaine JH, Rochon DM. 1991. Nucleotide sequence of Tomato ringspot virus RNA-2. J Gen Virol. 72(Pt 7):1505-1514.
- Salazar LF. 1982. Manual de enfermedades virosas de la papa. Lima: Centro Internacional de la Papa (CIP).
- Salazar LF. 1995. Los virus de la papa y su control. Lima: Centro Internacional de la Papa (CIP).
- Salazar LF. 1997. La enfermedad del amarillamiento de las venas de la papa: Evidencia de la presencia de un virus inusual. Agroenfoque. 12:24-26.
- Salazar LF, Müller G, Querci M, Zapata JL, Owens RA. 2000. *Potato yellow vein virus*: its host range, distribution in South America, and identification as a crinivirus transmitted by *Trialeurodes vaporariorum*. Ann Appl Biol. 137(1):7-19.
- Salazar, L.F. 2006. Emerging and Re-emerging Potato Diseases in the Andes. Potato Res. 49(1):43-47.
- Samuel, G. 1934. The Movement of *Tobacco Mosaic Virus* Within the Plant. Ann Appl Biol. 21(1):90-11.
- Sanford JC, Johnson SA. 1985. The concept of parasite-derived resistance—deriving resistance genes from the parasite's own genome. J Theor Biol. 113(2):395-405.
- Shepherd DN, Mangwende T, Martin DP, Bezuidenhout M, Kloppeers FJ, Carolissen CH, Monjane AL, Rybicki EP, Thomson JA. 2007. Maize streak virus-resistant transgenic maize: a first for Africa. Plant Biotechnol J. 5(6):759-767.
- Shepherd DN, Martin DP, Van Der Walt E, Dent K, Varsani A, Rybicki EP. 2010. *Maize streak virus*: an old and complex 'emerging' pathogen. Mol Plant Pathol. 11(1):1-12.
- Shors T. 2013. Understanding viruses. Segunda edición. Burlington: Jones & Bartlett Learning.
- Silva-León, G. 2002. Clasificaciones de pisos térmicos en Venezuela. Rev Geog Venez. 43(2):311-328.
- Singh RP, Kurz J, Boiteau G, Bernard, G. 1995. Detection of *Potato leafroll virus* in single aphids by the reverse transcription polymerase chain reaction and its potential epidemiological application. J Virol Methods. 55(1):133-143.
- Smith H, Patron N. 2000. Risk assessment of virus resistant transgenic sugar beet. Br Sugar Beet Rev. 68(2):47-50.
- Smith GR, Borg Z, Lockhart BEL, Braithwaite KS, Gibbs MJ. 2000. Sugarcane yellow leaf virus: a novel member of the Luteoviridae that probably arose by inter-species recombination. J Gen Virol. 81(Pt 7):1865-1869.

- Scholthof KB, Adkins S, Czosnek H, Palukaitis P, Jacquot E, Hohn T, Hohn B, Saunders K, Candresse T, Ahlquist P, Hemenway C, Foster GD. 2011. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol.* 12(9):938-54.
- Tenorio J, Chuquillanqui C, García A, Guillén M, Chavez R, Salazar LF. 2003. Sintomatología y efecto en el rendimiento de papa de un nuevo virus transmitido por el psílido *Russelliana solanicola*. *Fitopatología.* 38:32-36.
- Tsai JC, Chen TH, Chang CA. 2008. Identification and characterization of a *Tomato mosaic virus* isolate infecting *Ixora* (*Ixora duffii* cv. 'Super King'). *Plant Pathol Bull.* 17(2):143-155.
- Tsompana M, Abad J, Purugganan M, Moyer JW. 2005. The molecular population genetics of the *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) genome. *Mol Ecol.* 14(1):53-66.
- Urcuqui-Inchima S, Haenni AL, Bernardi F. 2001. Potyvirus proteins: a wealth of functions. *Virus Res.* 74(1-2):157-175.
- Valverde RA. 1990. Analysis of Double-Stranded RNA for Plant Virus Diagnosis. *Plant Dis.* 74(3):255-258.
- Van Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL, Carstens EB, Estes MK, Lemon SM, Maniloff J, Mayo MA, Mcgeoch DJ, Pringle CR, Wickner RB (eds.). 2000. *Virus Taxonomy: Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Academic Press.
- Van Regenmortel MH. 1990. Virus species, a much overlooked but essential concept in virus classification. *Intervirology.* 31(5):241-254.
- Van Regenmortel MHV, Mahy BWJ (eds.). 2009. *Desk Encyclopedia of Plant and Fungal Virology*. EE. UU.: Academic Press.
- Vanitharani R, Chellappan P, Fauquet C. 2005. Geminiviruses and RNA silencing. *Trends Plant Sci.* 10(3):1360-1385.
- Varsani A, Shepherd DN, Dent K, Monjane AL, Rybicki EP, Martin DP. 2009. A highly divergent South African geminivirus species illuminates the ancient evolutionary history of this family. *Virol J.* 6:36.
- Vásquez V, Montero-Astúa M, Rivera C. 2006. Incidencia y distribución altitudinal de 13 virus en cultivos de *Solanum tuberosum* (solanaceae) en Costa Rica. *Rev Biol Trop.* 54(4):1135-1141.
- ViralZone. c2011. Lausana: Swiss Institute of Bioinformatics. [consultado 2011-2015]. <http://viralzone.expasy.org/>.
- Wang B, Ma Y, Zhang Z, Wu Z, Wu Y, Wang Q, Li M. 2011. Potato viruses in China. *Crop Prot.* 30(9):1117-1123.

Webster CG, Stephen W, Wylie J, Jones M. 2004. Diagnosis of plant viral pathogens. *Curr Sci.* 86(12):1604-1607.

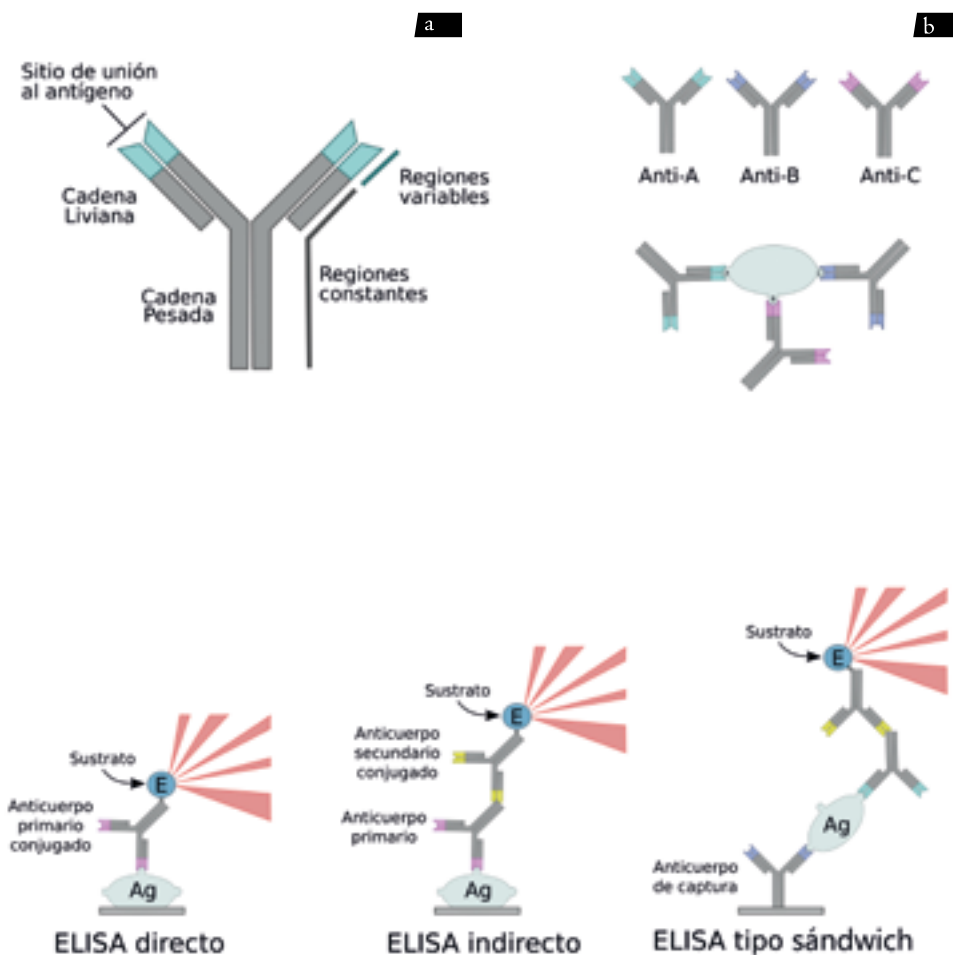
Wright K, Cowan GH, Lukhovitskaya NI, Tilsner J, Roberts AG, Savenkov EI, Torrance L. 2010. The N-terminal domain of PMTV TGB1 movement protein is required for nucleolar localization, microtubule association, and long-distance movement. *Mol Plant Microbe Interact.* 23(11):1486-1497.

Xu H, Nie J. 2006. Identification, Characterization, and Molecular Detection of *Alfalfa mosaic virus* in Potato. *Phytopathology.* 96(11):1237-1242.

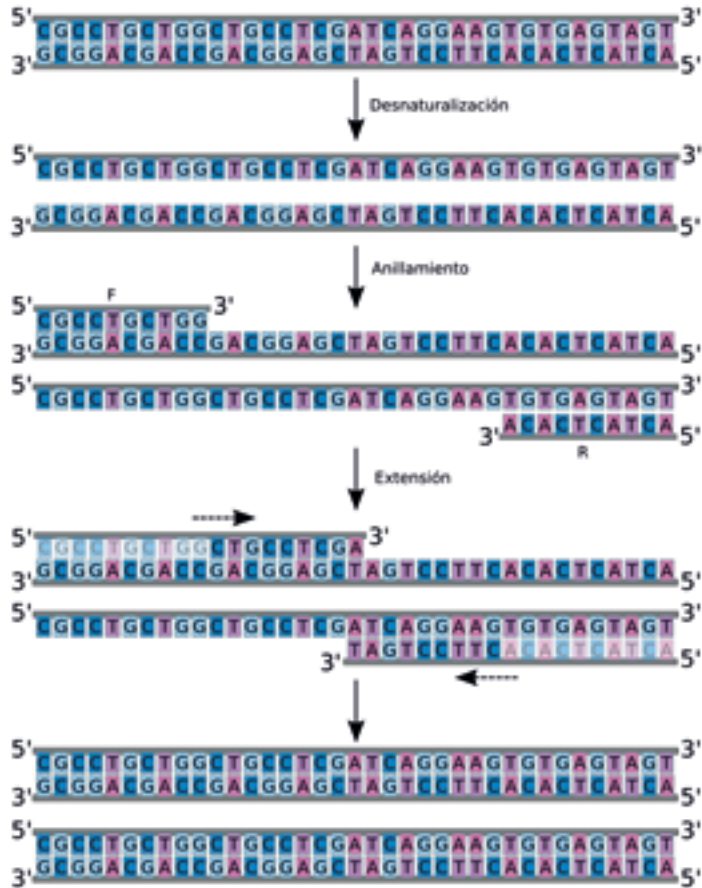
Yokomi RK, Lastra R, Stoetzel MB, Damsteegt VD, Lee RF, Garnsey SM, Gottwald TR, Rocha-Peña MA, Niblett CL. 1994. Establishment of the brown citrus aphid (*Homoptera: Aphididae*) in Central America and the Carribean Basin and transmission of citrus tristeza virus. *J Econ Entomol.* 87(4):1078-1085.

Apéndices

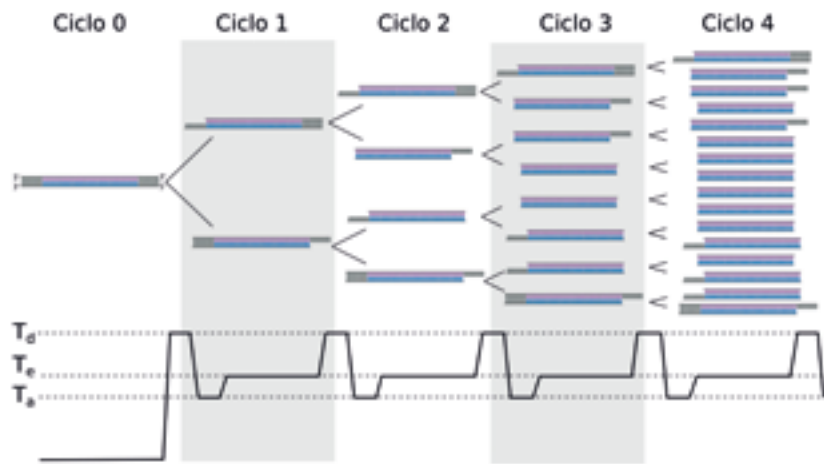
Apéndice 1. Estructura de anticuerpos y sitios de unión de antígenos y diferentes formatos de pruebas de ELISA



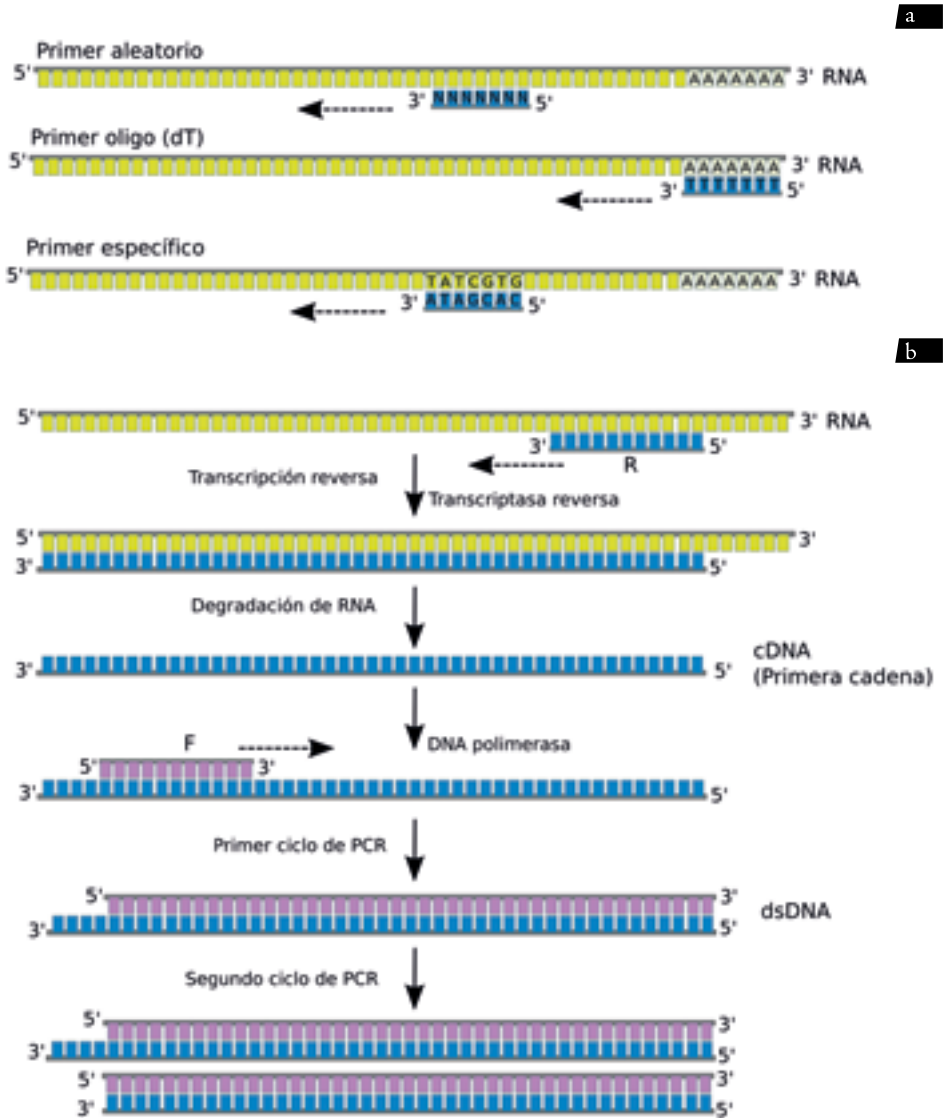
Apéndice 2. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)



{ 308 }

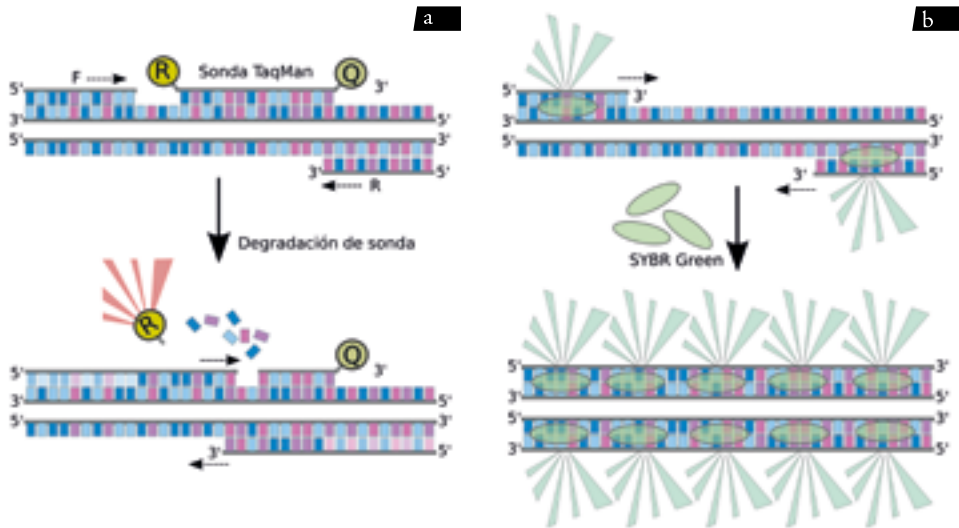


Apéndice 3. RT-PCR

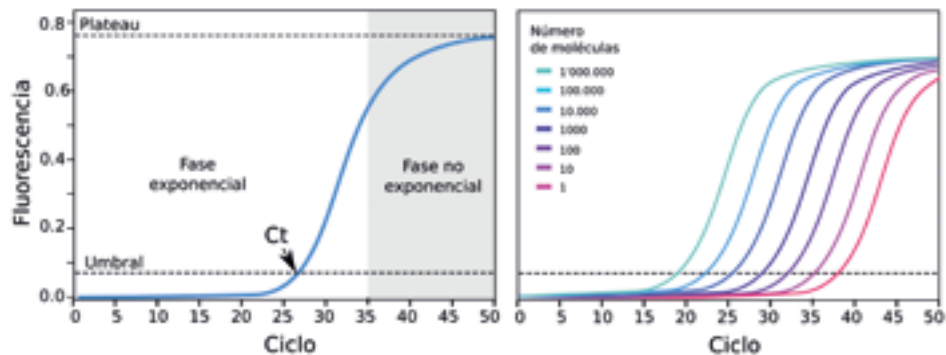


Apéndice 4.

Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR)



{ 310 }



Las enfermedades de las plantas causadas por virus constituyen uno de los factores más limitantes para la agricultura mundial. Se estima que cerca de un 20 % del total de las enfermedades de importancia agrícola son de origen viral y se atribuye a tales procesos infectivos pérdidas de varios miles de millones de dólares por año. A pesar del impacto negativo de las enfermedades virales en las regiones tropicales y subtropicales, la información disponible, sobre las características básicas de la biología de sus agentes causales en estas zonas y los estudios aplicados a la generación de estrategias de manejo, es escasa en comparación con lo reportado para la región templada.

En este libro se realiza un recorrido por los aspectos más relevantes de la virología de plantas, con énfasis en aquellos de mayor trascendencia para las regiones tropicales y subtropicales y en los aspectos moleculares asociados con los genomas, las proteínas y los ciclos de infección de los virus. El contenido del libro está organizado en cuatro secciones: (i) Generalidades de los virus, (ii) Ciclo infectivo, relaciones con hospedantes y vectores, (iii) Características de algunos de los principales grupos taxonómicos de virus y (iv) Descripción y manejo de enfermedades virales en los trópicos.

Esperamos que el presente texto sea un estímulo para que los jóvenes en universidades y colegios técnicos de agricultura y biología se sientan atraídos por esta disciplina de la virología vegetal. Los desafíos por resolver sobre el conocimiento, efecto y manejo de los problemas virales seguramente garantizarán su ocupación laboral y un continuo reto para sus vidas académicas. Así mismo, la enorme cantidad de aplicaciones bioinformáticas, moleculares, agroecológicas y estadísticas les proporcionarán un entorno de gran dinamismo y actualidad tecnológica, acorde con los niveles de desarrollo del siglo XXI.



CORREO: bac@corpoica.org.co
TELÉFONO: (57 1) 422 73 00 EXT. 1257 o 1274
SKYPE: [biblioteca.agropecuaria](https://www.skype.com/name/biblioteca.agropecuaria)



Distribución gratuita
Prohibida su venta

www.corpoica.org.co

