

TRABAJO COLABORATIVO 2
VIROLOGIA



Presentado a:
DIANA ANGELICA CARVAJAL BERNAL
BIOLOGA
CURSO: 203016
Grupo: 3

UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA
ESCUELA DE CIENCIAS AGRICOLAS, PECUARIAS Y DEL MEDIO AMBIENTE
ESPECIALIZACION BIOTECNOLOGÍA AGRARIA
2011

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	3
1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.....	4
2. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	5
3. MARCO CONCEPTUAL.....	5
3.1. El virus del rayado del banano (BSV).....	5
3.2. Rango de hospederos.....	6
3.3. Propagación del BSV.....	6
3.4. Sintomatología.....	7
3.5. Diagnóstico y detección.....	7
3.6. Acerca de las técnicas de detección.....	8
3.7. Control.....	9
4. OBJETIVOS.....	10
5. METODOLOGÍA.....	10
5.1. Las técnicas para detección de BSV, en plantaciones de banano en Colombia.....	10
5.2. Control del BSV en plantaciones de banano.....	11
6. BIBLIOGRAFÍA.....	11

INTRODUCCIÓN.

En Colombia, se cultivan aproximadamente 400000 ha en plátano (la mayoría para consumo local) y 48000 ha en banano Cavendish para exportación; el país es el segundo exportador de banano en América del sur, después del Ecuador. El plátano es considerado uno de los principales cultivos de la zona cafetera central, la cual aporta cerca del 32% de la producción nacional. En esta zona se cultiva entre los 900 y 2000 m de altitud. Intercalado con café en un 81%, con otros cultivos en un 4% y como monocultivo en el 15% del área cultivada (Belalcázar, Arcila, Valencia, Reichel, & Narvaez, 1996).

Los bananos y plátanos son afectados por numerosas enfermedades provocadas por bacterias, hongos, virus, algas y nematodos; los países productores invierten grandes sumas de dinero en investigación, transferencia tecnológica y en el control de las enfermedades (Garrido, Ordosgoitti, & Lockhart, 2005). A finales de 1995, en las localidades de Andes, Venecia, Hispania (Antioquia) y la Tebaida y Montenegro (Quindío) se observaron hojas de plátano Dominico-Hartón con síntomas de rayado clorótico característico de la enfermedad del rayado del banano. Las pruebas serológicas comprobaron la presencia del virus del rayado del banano en Colombia (Cayon & Salazar, 2001).

La enfermedad del rayado del banano, es causada por el virus del rayado del banano (BSV), el cual fue reportado por primera vez en 1974 en Costa de Marfil, África, donde ocasionó pérdidas hasta del 90% en banano Cavendish; esta enfermedad ha sido reportada casi en todas las regiones en donde se cultivan plátano y banano (Reichel, Belalcázar, Múnera, Arévalo, & Narváez, 1996).

El virus del rayado del banano (BSV), pertenece al grupo de los badnavirus y es muy variable serológicamente. El BSV es único entre los virus de plantas ya que las secuencias virales están integradas en el genoma del huésped. La secuencia integrada del BSV por sí misma no es un simple genoma viral, sino que tiene muchas secuencias invertidas y rearrregladas (Inibap, 1999).

Comentario [d1]: Párrafo altamente similar a uno dentro del documento: http://www.cadenahortofruticola.org/admin/bibli/250fitotecnia_enfermedades_virales.doc

1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.

La producción bananera en Colombia, se encuentra amenazada por el virus del rayado del banano, que ataca el sistema foliar de las plantaciones ocasionando severos daños a la calidad y el peso del racimo, sobre todo cuando hay condiciones de estrés (debido a las condiciones ambientales y por malas prácticas agrícolas).

A diferencia de las enfermedades ocasionadas por bacterias u hongos, las enfermedades virales no se pueden controlar mediante productos químicos, más aún las plantas tienen muy pocas fuentes de resistencia natural contra virus. La identificación de BSV es difícil, se requiere muestrear hojas con síntomas severos y hacer pruebas serológicas o de microscopia en laboratorios especializados; además tiene heterogeneidad genómica y serológica en los diferentes aislamientos del BSV (Reichel, Belalcázar, Múnera, Arévalo, & Narváez, 1996). Tradicionalmente el plátano ha sido reproducido y sembrado por medio de material vegetativo, el cual, es el mejor vehículo para diseminar enfermedades y plagas de importancia económica.

2. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.

La **puesta** en marcha de este proyecto, **pone** en alerta al productor de banano contra los daños ocasionados por el virus del rayado del banano (BSV), que es una plaga muy limitante dentro de las plantaciones bananeras; también ayuda al diagnóstico oportuno de enfermedades relacionadas con el BSV, guía al investigador para hacer los análisis correspondientes, pues tiene la base metodológica y las técnicas, que le sirven para poner en marcha la detección del virus. **Importante es reconocer** como se debe manejar el cultivo en caso de que existan indicios de ataque de BSV, y el documento presenta una información útil sobre los mecanismos de control a tener en cuenta para la nueva orientación en la producción.

Comentario [d2]: Es importante reconocer...

3. MARCO CONCEPTUAL.

3.1. *El virus del rayado del banano (BSV).*

El virus del rayado del banano (Banana Streak Virus, BSV) tiene forma baciliforme mide cerca de 30 x 120-150nm y ADN de doble cadena; genoma de 7.4-7.8 kbp (Reichel, Belalcázar, Múnera, Arévalo, & Narváez, 1996). El genoma contiene tres marcos de lectura abiertos (ORFs) en el arreglo típico de un badnavirus (Loebenstein & Thottappilly, 2003). El tamaño de las partículas de 60-900nm de longitud, **han** sido observadas en preparaciones purificadas.

Las partículas tienen un núcleo de alta densidad de electrones y la parte tubular de la partícula tiene una estructura basada en un corte icosaedro a través de sus tres ejes, con una repetición estructural de 10nm y nueve anillos de **haxámero** en longitud de 130nm (Geering & Thomas, 2002). Los badnavirus difieren de otros virus de plantas por la morfología de las partículas, el tamaño del genoma, la relación de los vectores y su histopatología (Pillay & Tenkouano, 2011).

3.2. Rango de hospederos.

La mayoría de los badnavirus están presentes en cultivos tropicales propagados de forma clonal y naturalmente por propagación vegetativa. El virus BSV tiene típicamente un rango de hospederos naturalmente restringido, frecuentemente limitado a unas pocas especies dentro de un género de plantas. El BSV está serológicamente relacionado a virus baciliformes de la caña de azúcar (ScBV) (Pillay & Tenkouano, 2011).

Muchos genotipos de banano diferentes son susceptibles a la infección con el BSV, incluyendo *Musa acuminata* (*Musa* de los grupos AA y AAA) y *M. balbisiana* (*Musa* grupo BB) los tipos, así como híbridos de estas dos especies (*Musa* AAB, ABB, grupos ABBB) (Geering & Thomas, 2002). El BSV se dice que se reproduce en una amplia gama de genotipos de banana, incluyendo los grupos AA, AAA, AB, AAB, ABB; BSV derivados de la infección de las secuencias virales integradas es común entre híbridos triploides (AAB) y tetraploides (AAAB) producidos en programas de cría durante los últimos diez años (Loebenstein & Thottappilly, 2003).

Comentario [d3]: Es algo confusa esta parte.

3.3. Propagación del BSV.

El BSV presenta la característica de que se encuentra integrado al genoma de la planta de forma que cuando hay condiciones de estrés (bajas temperaturas cultivo de tejidos, etc.), las plantas presentan la partícula viral y la expresión de los síntomas pudiendo producir pequeños racimos (Centro nacional de sanidad vegetal, 2008). El BSV surge de las secuencias integradas activadas en los híbridos tetraploides de plátano; el cultivo de tejidos es un factor que dispara la expresión episomal de las secuencias integradas del BSV, tanto las secuencias activables (que se expresan episomalmente) y no activables (que no se expresan episomalmente) (Promusa, 2000).

Como la mayoría de badnavirus, El BSV se produce en un cultivo propagado de manera clonal. Por lo tanto, la propagación vegetativa es el principal método de propagación del virus, ya que todas las plantas de la progenie procedentes de una planta madre infectada BSV eventualmente desarrollan síntomas de racha viral de la hoja viral. El

BSV y nueve de los otros 11 miembros definitivos del género Badnavirus son transmitidos por cochinillas (*Pseudococcidae*); RTBV es la excepción, transmitido por saltahojas del arroz (*Cicadellidae*). Las cochinillas vectores de badnavirus incluyen especies de *Pseudococcus*, *Planococcus*, *Planococcoides*, *Ferrisia*, *Saccharicoccus* y *Dysmicoccus*. El BSV ha mostrado ser transmitido por *Planococcus citri* y *Saccharicoccus sacchari*, que colonizan el plátano (Lockhart, 1995).

El BSV no se transmite mecánicamente, de tal manera que es poco frecuente la transmisión entre plantas enfermas y sanas en el platanal. La transmisión importante es entre plantas y semilla, incluyendo material propagado in vitro (Ministerio de agricultura, 2004).

3.4. Sintomatología

En estado asintomático es difícil la identificación salvo por PCR o ELISA. Avanzada la enfermedad se observa: (1) Pseudotallo con vainas fisuradas y mal olientes; (2) dedos de racimo pequeños y enconchados; (3) los dedos presentan necrosis interna y externamente; (4) la aparición de la floración es deforme y (5) la planta crece arrepollada y raquílica (Horna, 2008). Estos síntomas son más severos en las zonas lluviosas que en las zonas secas; los síntomas de rayado pronunciado ocurren esporádicamente en todo el año cuando coincide con el inicio de la inflorescencia (Pillay & Tenkouano, 2011).

3.5. Diagnóstico y detección.

Un diagnóstico confiable de BSV en banana es complicado por varios factores que surgen de la naturaleza de la enfermedad, y del agente causal en sí mismo. En primer lugar, el diagnóstico basado en los síntomas foliares, puede ser muy poco fiable debido a la naturaleza esporádica de expresión sintomática durante todo el año. Los síntomas pueden estar totalmente ausentes, o quizá imprecisos, bajo ciertas condiciones. Aunque se han observado los efectos de las condiciones ambientales (temperatura, duración del día) en la expresión de síntomas, las condiciones precisas que desarrollan

los síntomas no han sido identificadas. La expresión de síntomas es también generalmente carente en plantas procedentes de multiplicación in vitro (Lockhart, 1995). Es conocido que el BSV tiene persistencia en el hospedero por un largo periodo de tiempo sin producir ningún síntoma. La integración de más de un genoma de larga duración del virus en la célula hospedero es un problema para el poder de cuarenta y tiene serias implicaciones sobre el cambio de material de siembra en los límites internacionales (Pillay & Tenkouano, 2011).

Las partículas de virus pueden ser detectadas por varios medios: por ELISA usando anticuerpos policlonales y por inmunocaptura (IC) reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las secuencias de ácido nucleico viral que son integradas en el genoma de *Musa spp.* Pueden ser identificadas usando directamente PCR (Inibap, 1998). En estudios realizados por Garrido, Ordosgoitti, & Lockhart (2005) el BSV fue identificado por microscopia electrónica inmuadsorbente y mediante la técnica de PCR usando extractos de hojas parcialmente purificados.

Para identificar BSV en muestras de plantaciones de banano en Colombia Reichel, Belalcázar, Múnera, Arévalo & Narváez (1996), utilizaron la prueba serológica DAS-ELISA; emplearon anticuerpos policlonales comerciales; además, a través de microscopia electrónica realizaron prueba de serología específica para microscopia de transmisión (Immunosorbent electron microscopy – ISEM).

3.6. Acerca de las técnicas de detección.

Ensayos de PCR específicos están disponibles para BSV-OL, BSV-Mys, BSV-Cav y BSV-GF; debe utilizarse inmunocaptura PCR para distinguir entre las formas del ADN viral, especialmente en híbridos *Musa* AxB. ISEM es generalmente un ensayo más sensible que el ELISA. Para los efectos de la cuarentena, una combinación de la purificación parcial y microscopia electrónica de inmunoensayo es el método de indexación más confiable para detectar todas las cepas del BSV; la PCR actualmente disponible no tiene la sensibilidad necesaria para uso rutinario (Geering & Thomas, 2002).

Al momento de referirse a las técnicas que son de mayor uso para la identificación de los BSV Lockhart (1995) dice: usando (serología) basado en antígeno y PCR basado en el genoma, los ensayos son solo parcialmente exitosos debido al alto grado de heterogeneidad serológica y genómica que existe entre los aislados del virus. Los protocolos de indexación (ELISA), usando antisuero policlonal contra una mezcla de antígenos BSV, son parcialmente exitosos en la identificación de BSV; recomienda la utilización del método de detección serológica a través de microscopia electrónica inmunoabsorbente (ISEM), usando extractos purificados parcialmente, preparados a partir de muestras pequeñas (5-7 gm) del tejido de la hoja. Estas técnicas se deben complementar con Inmunocaptura (IC) seguida de PCR (IC-PCR) para diferenciar las secuencias episomal y retroviral en banano.

3.7. Control.

El control de BSV es particularmente difícil, por los problemas asociados con la detección, y la presencia de secuencias BSV integradas en el genoma B de híbridos *Musa*. (Loebenstein & Thottappilly, 2003). El control de badnavirus se puede realizar mediante el establecimiento de nuevas plantaciones de plátano y banano, usando material certificado libre de BSV (Cayon & Salazar, 2001). Una combinación de cultivo de meristemos y termoterapia es otro método confiable; sin embargo esto no es garantía de materiales libres de virus (Pillay & Tenkouano, 2011). Las infecciones BSV episomales se han eliminado de bananas Cavendish usando criopreservación, aunque esta técnica es poco probable que sea exitosa para híbridos *Musa* que contienen secuencias integradas (Loebenstein & Thottappilly, 2003).

Pillay y Tenkouano (2011) sugieren el uso de compuestos anti virus en los cultivos **in vitro** para eliminar virus de germoplasmas; uno de los compuestos más efectivos y comúnmente usados es Ribavirin (1-D-ribofuranosil-1-h-1, 2,4-triazole-3-carboxamide). Pero dado que no existen reportes de su actividad contra los virus de doble cadena de plantas, no puede ser considerado como un potencial agente terapéutico para la eliminación de BSV.

(Centro nacional de sanidad vegetal, 2008) Dice que para el manejo de esta virosis se requiere: (1) establecer un programa de indexado de plantas sanas previo a la multiplicación in vitro; (2) utilizar material agámico de la plantación; (3) eliminación sistemática con extracción y destrucción de los rizomas de las plantas que presente los síntomas de las enfermedad, y (4) desinfección de los instrumentos empleados en el manejo de semilla con solución de formalina al 2%.

Comentario [d4]: No es la manera correcta de citar.

Comentario [d5]: Es copia textual del documento (debería ir entre comillas): http://www.google.com/url?sa=t&source=web&cd=1&ved=0CBYQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.actaf.co.cu%2Findex.php%3Foption%3Dcom_mtrees%26task%3Datt_download%26link_id%3D294%26cf_id%3D24&rct=j&q=desinfecci%C3%B3n%20de%20los%20instrumentos%20empleados%20en%20el%20manejo%20de%20semilla%20con%20soluci%C3%B3n%20de%20formalina%20al%202%25.&ei=jjrpTeGvEITy0gG5PSjAQ&usg=AFQjCNF-xmKA5REUrf0151fZzKVfXhPpmg&cad=rja

4. OBJETIVOS.

- Proponer una metodología para la detección del (BSV), en plantaciones de banano en Colombia.
- Proponer alternativas de manejo y control para las plantaciones que presentan el virus del rayado del banano.

5. METODOLOGÍA.

5.1. Las técnicas para detección de BSV, en plantaciones de banano en Colombia.

Para la detección del virus del rayado del banano (BSV), se utilizará la técnica de microscopia electrónica inmunoabsorbente (ISEM), ya permite una mayor eficiencia en la detección de partículas virales. En esta, las partículas virales son selectivamente atrapadas y concentradas en rejillas cubiertas de anticuerpos con pequeñas cantidades de material de la planta hospedera contaminada.

Se utilizarán muestras foliares de cultivo de banano, en regiones donde se presenten problemas relacionados con la sintomatología del BSV; se determinará el número de muestras a coger para cada región.

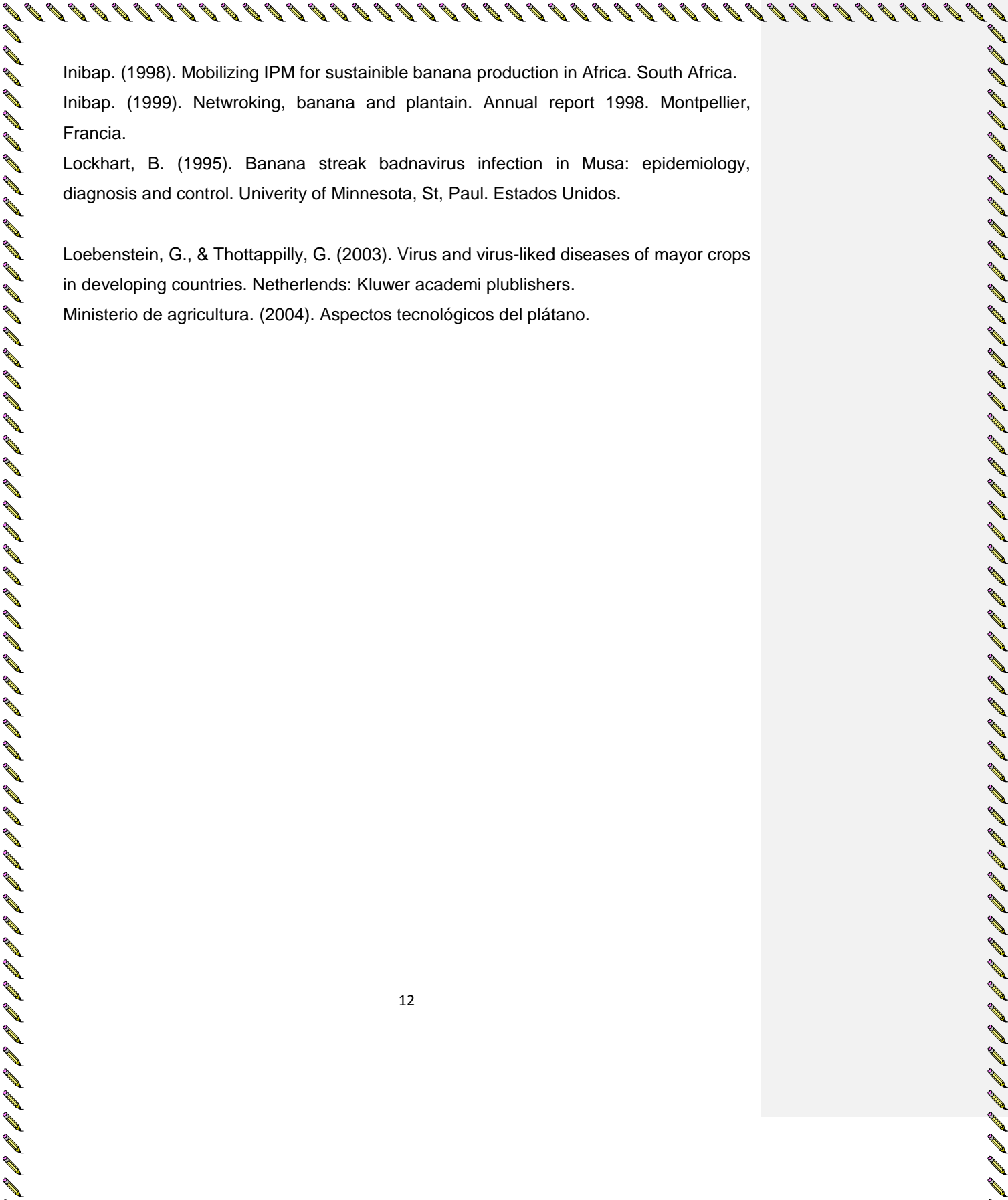
5.2. Control del BSV en plantaciones de banano.

Para controlar el virus de rayado del banano se debe realizar:

- Una buena selección de semillas sanas, conocer el historial de la semilla
- Evitar traslado de material infectado,
- Realizar pruebas (ISEM) para identificar el virus, antes de la siembra, traslado etc.
- Realizar buenos controles de malezas en canales y bordes de la plantación
- Evitar cultivar plátano y banano en los mismos lotes ya que se cree que el virus rayado utiliza los cultivos de plátano como hospedero
- Mantener el cultivo con buena fertilización de acuerdo a los requerimientos nutricionales del cultivo.(buenas practicas agronómicas)

6. BIBLIOGRAFÍA.

- Cayon, D., & Salazar, F. (2001). Resúmenes analíticos en la Investigación sobre el Plátano. Armenia, Colombia: Feriva S.A.
- Centro nacional de sanidad vegetal. (2008). Programa de defensa para el manejo integrado de plagas en banano y plátano.
- Garrido, M., Ordosgoitti, A., & Lockhart, B. (2005). Identificación del virus del rayado del banano en Venezuela. INCI , 30 (2), 97-101.
- Gering, A., & Thomas, J. (2002). Virus del rayado del Banano. Association of Applied Biologists .
- Horna, P. (2008). Avance de las enfermedades del BSV, erwinia, mocus y cocomus virus en el cultivo del banano ecuatoriano. Guayaquil.



Inibap. (1998). Mobilizing IPM for sustainable banana production in Africa. South Africa.

Inibap. (1999). Networking, banana and plantain. Annual report 1998. Montpellier, Francia.

Lockhart, B. (1995). Banana streak badnavirus infection in Musa: epidemiology, diagnosis and control. University of Minnesota, St. Paul. Estados Unidos.

Loebenstein, G., & Thottappilly, G. (2003). Virus and virus-like diseases of major crops in developing countries. Netherlands: Kluwer academic publishers.

Ministerio de agricultura. (2004). Aspectos tecnológicos del plátano.