

Transcripción del Curso de Virología Vegetal, Semana 5

5.1. (00:10 00:37) Bienvenido a la Quinta Clase del curso "Virología vegetal", que trata de la detección, identificación y control de virus.

Se utilizan muchos métodos y técnicas diferentes para la detección e identificación de virus de plantas. Los necesitamos para el diagnóstico de una infección vírica en los campos, durante muchas situaciones epidemiológicas y de cuarentena, así como en investigación básica de los virus de plantas.

5.2 (00:37 01:06) Prueba biológica es la prueba que implica la respuesta de plantas indicadoras a una inoculación (infección artificial). La prueba permite medir la infectividad relativa de un virus patógeno. Se necesita mucho tiempo para que la planta indicadora responda a la infección (5-20 días hasta 1 año).

5.3. (01:06 01:34) Los métodos serológicos se basan en la reacción inmunológica de un virus (antígeno) con anticuerpos específicos (gammaglobulinas). Hay muchas técnicas serológicas, pero para analizar plantas de forma rutinaria a gran escala la prueba más empleada es el ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) sándwich de doble anticuerpo (DAS-ELISA). (Véase van Regenmortel, 1982)

5.4. (01:34 01:49) Por técnicas de microscopía electrónica es posible observar directamente partículas víricas y los cuerpos de inclusión. A veces se puede identificar de forma preliminar el género del virus de planta.

5.5. (01:49 02:17) A menudo se utilizan los siguientes métodos de biología molecular en virología de plantas: electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE), reacción en cadena de la polimerasa (PCR), reacción en cadena polimerasa precedida por transcripción inversa (RT-PCR), inmuno captura con reacción en cadena polimerasa precedida por transcripción inversa (IC RT-PCR), hibridación mediante Dot Blot (cDNA), Southern Blotting (ADN), Northern Blotting (ARN), Western Blotting (proteínas) y muchos otros.

5.6. (02:17 02:43) En general es importante evitar las enfermedades víricas de las plantas. Hasta ahora, no existe control químico directo para los virus de plantas. Se ha introducido la estrategia de usar muchos métodos integrados para reducir las pérdidas de cultivos a niveles aceptables.

5.7. (02:43 03:00) El control de las enfermedades víricas de plantas debe basarse en el empleo de materiales sanos de plantas iniciadoras obtenidos de material vegetal certificado como libre de virus (por ejemplo, después de termoterapia, cultivo de la punta del meristemo o quimioterapia *in vitro*) o de semillas libres de virus. Los programas de certificación de planta proporcionan a los productores locales propágulos sanos y de alta calidad para iniciar sus cultivos.

5.8. (03:00 03:21) Uso de variedades de plantas resistentes. La resistencia de la planta es la reducción o eliminación de la infección vírica de la planta genéticamente determinada. Es un potencial reducido de enfermedad causada por ese virus. La resistencia que existe en las plantas antes de las infecciones, partiendo, por ejemplo, de estructuras morfológicas de las células vegetales y de los tejidos, se llama resistencia preexistente.

5.9. (03:21 04:24) Los mecanismos de defensa de la planta que evolucionan después de la infección incluyen:

Hipersensibilidad - una respuesta rápida de muerte de la célula hospedadora, asociada a la defensa mediada por "genes R de resistencia",

Resistencia sistémica adquirida (SAR) en gran parte mediada por vías dependientes de ácido salicílico, con producción de proteínas relacionadas con patogenicidad (proteínas PR),

Resistencia sistémica inducida (ISR) mediada por vías dependientes del ácido jasmónico - etileno,

Mecanismos de silenciamiento génico mediados por ARN de interferencia. El silenciamiento de ARN se basa en degradar secuencias específicas de ARN. Los virus de plantas codifican proteínas que suprimen el silenciamiento de ARN de la planta (https://en.wikipedia.org/wiki/Plant_disease_resistance_).

5.10. (04:24 05:04) En la figura se muestra el nivel resistencia de la planta a la inoculación de virus. Se inocularon cuatro variedades de una especie de planta con la misma cepa de fitovirus.

La variedad de planta resistente tiene la capacidad inherente para superar o retrasar la infección por el patógeno (virus). Una planta puede ser un poco, moderadamente o altamente resistente. Las plantas que pertenecen al grupo taxonómico que están fuera del rango de hospedador del agente patógeno (virus) se llaman "plantas inmunes". También se llama también "resistencia no debida al hospedador".

5.11. (05:04 05:25) La variedad susceptible de la planta es incapaz de resistir la infección por el patógeno (virus). La variedad sensible siempre reacciona a la infección con síntomas graves de enfermedad. También existen variedades tolerantes, cuyas características genéticas les permiten reducir la enfermedad potencial y son capaces de producir buenas cosechas incluso cuando están infectadas.

5.12. (05:25 06:12) La mejora genética para la resistencia incluye:

Métodos clásicos de mejora, por ejemplo selección, cruce con las plantas que contienen genes de resistencia natural (Rx1-patata, N – tabaco, Tm1, Tm2-tomate)-teoría del "gen por gen" y

Técnicas de ingeniería genética para la transformación genética de células vegetales para la resistencia a las enfermedades. Transformación de plantas con secuencias que codifican proteínas de la cápsida (por ejemplo, la expresión de proteínas de la cápsida de TMV en plantas de tabaco las protege del virus del mosaico del tabaco (resistencia derivada del patógeno, PDR).

Otros métodos incluyen la expresión en plantas de ARNs víricos satélites, la aplicación de regulación génica anti-sentido, ribozimas, o la expresión de genes de interferón humano en plantas (Gadani et al., 1990).

5.13. (06:12 06:44) Otras normas de protección de plantas contra virus incluyen: el control químico de insectos, nematodos y hongos vectores de virus de plantas, el control químico de los hospedadores naturales de malezas hospedadoras de virus, la eliminación de fuentes de infección y el uso de cualquier otro método agrícola útil para la protección de la planta y el cumplimiento de las reglas de cuarentena. La **protección cruzada** es un fenómeno que se produce cuando la infección con un virus leve previene o suprime los efectos nocivos de una posterior infección por un virus grave relacionado.

5.14. (06:44 07:05) La termoterapia y el cultivo de la punta del meristemo se utilizan para la erradicación de virus de plantas. Plantas en una cámara de crecimiento. Para la termoterapia, las plantas se tratan con aire caliente (28-42°C) durante 4-6 semanas. El tratamiento térmico reduce la concentración de virus en las plantas y los nuevos brotes están libres de virus.

5.15. (07:05 07:20) La mayoría de los virus de plantas no puede invadir el tejido meristemático. Los meristemos apicales se pueden cortar y cultivar asépticamente "*in vitro*" o en un medio artificial. Esquema del meristemo (punta de crecimiento) con la línea de corte del explante.

5.16. (07:20 07:28) Cultivo de punta de meristemo. Punta de explantes en puentes de filtro sumergidos en medio de M/S.

5.17. (07:28 07:34) Cultivo de punta de meristemo. Explante en crecimiento.

5.18. (07:34 07:43) Plantas regeneradas de cultivo de punta del meristemo listo para transferir a sustratos de perlita o vermiculita estériles (listos para poner en maceta).

5.19. (07:43 08:00) Esquema para la erradicación de virus a partir de material de propagación vegetal mediante termoterapia, seguido por cultivo de puntas de meristemos.

5.20. (08:00 08:04) Gracias por su atención.