

**DETECCIÓN DEL Virus del mosaico suave del ñame
MEDIANTE IC-RT-PCR EN CICADÉLIDOS, *Rhynchosia minima* y
*Dioscorea rotundata***

**DETECTION OF Yam mild mosaic virus BY IC-RT-PCR IN
LEAFHOOPERS, *Rhynchosia minima* and *Dioscorea rotundata***

Deivys M. Álvarez¹, Antonio M. Pérez², Juan M. Díaz³, Javier D. Beltrán⁴

Recibido para evaluación: Mayo 27 de 2011 - Aceptado para publicación: Junio 14 de 2011

RESUMEN

En Colombia, el ñame (*Dioscorea* spp) es cultivado y tiene gran importancia al ser alimento básico para los habitantes de la región Caribe. Las enfermedades de origen viral causan pérdidas en la producción y es fundamental identificar los vectores involucrados en su dispersión. El objetivo de este estudio fue detectar el Virus del mosaico suave del ñame (YMMV) en muestras sintomáticas de *Dioscorea rotundata* Poir, en el arvense *Rhynchosia minima* L. y en adultos de cicadélidos asociados al cultivo del ñame. Se tomaron muestras foliares en *R. minima* y *D. rotundata* cv. "Botón" y se colectaron cicadélidos. Se detectó el YMMV mediante IC-RT-PCR. Los resultados mostraron que *R. minima* es un arvense hospedero del YMMV, además que *Oncometopia* sp, *Mareja* sp y *Parathona cayennensis* son capaces de adquirir este virus y se confirma la presencia de virosis en los cultivos de ñame de la Región Caribe Colombiana.

Palabras clave: Cicadellidae. *Dioscorea*. *Rhynchosia*. YMMV. IC-RT-PCR.

ABSTRACT

In Colombia, yam (*Dioscorea* spp) is grown and is very important to be staple food for the inhabitants of the Caribbean Region. Viral diseases cause losses in production and are essential to identify the vectors involved in their dispersion. The aim of this study was to detect Yam mild mosaic virus (YMMV) in symptomatic samples of *Dioscorea rotundata* Poir, in weed *Rhynchosia minima* L. and adult leafhoppers associated with yam crops. Leaf samples of *R. minima* and *D. rotundata* cv. "Botón" and leafhoppers were collected. The YMMV

Universidad de Sucre. Grupo de Investigación en Biotecnología Vegetal. Carrera 28 No 5-267. Tel: 2821240 Ext 255-256. Sincelejo-Colombia.

¹Biólogo estudiante de Maestría en Biología. E-mail: deivysalvarez@gmail.com

²Docente MSc Entomología.

³Docente MSc Ciencias con énfasis en Recursos Fitogenéticos.

⁴Docente PhD Fitopatología.

was detected by IC-RT-PCR. The results showed that *R. minima* is a weed host of YMMV, in addition adults of *Oncometopia* sp, *Mareja* sp and *Parathona cayennensis* are able to acquire this virus and the presence of viruses in crops yam in the Colombian Caribbean region was confirmed.

Keys word: Cicadellidae. Dioscorea. Rhynchosia. YMMV. IC-RT-PCR.

INTRODUCCIÓN

El ñame (*Dioscorea* spp) es un cultivo de importancia socioeconómica en la Región Caribe de Colombia, cultivado mayormente en los departamentos de Bolívar, Córdoba y Sucre (Álvarez 2000). Estos pueden ser infectados por diferentes virus entre los cuales se destaca el género Potyvirus, que afectan la producción por la disminución en el tamaño y calidad de los tubérculos, y entre los cuales se encuentra el Virus del mosaico suave del ñame (YMMV) (Munford y Seal 1997). Investigaciones realizadas en África demuestran que los áfidos son los responsables de la transmisión de Potyvirus en ñame (Odu et al. 2006), sin embargo en Colombia no se observan colonias de dichos insectos asociadas a estos cultivos (Álvarez et al. 2011).

Los Cicadellidae, comúnmente llamados cicadélidos o saltahojas, poseen gran importancia agrícola debido a su capacidad de transportar y transmitir fitopatógenos; además, pueden causar daños directos en las plantas al alimentarse de la savia de las células y tejidos, lo cual resulta en su debilitamiento general (Freytag y Sharkey 2002). Estos insectos hacen parte de la entomofauna asociada a cultivos de ñame en Colombia y utilizan estas plantas como hospedero, fuente de alimento y sitios de oviposición.

Por su parte, el efecto negativo de arvenses en los cultivos es bien reconocido ya que aparte de ocasionar importantes reducciones en la producción por efecto de la competencia, también pueden ser hospederos alternativos de virus, de sus vectores o de ambos a la vez (Apablaza et al. 2003).

En atención a esto, se propuso detectar el Virus del mosaico suave del ñame (YMMV) en muestras sintomáticas de *Dioscorea rotundata* cv. Botón, en el arvense *Rhynchosia minima* y en adultos de cicadélidos asociados al agroecosistema ñame en cultivos del departamento de Sucre.

MATERIALES Y MÉTODOS

Toma de muestras y detección del YMMV

Se recorrieron cultivos de ñame, ubicados en el municipio de Toluviéjo en el departamento de Sucre, se tomaron muestras foliares en dos plantas de *R. minima* y siete plantas de *D. rotundata* cv. "Botón" con síntomas virales como mosaico y bandeo respectivamente. Las muestras se trasladaron, hasta el laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad de Sucre, en bolsas plásticas autosellantes refrigeradas (Apablaza et al. 2003). En estos mismos cultivos se colectaron, mediante aspirador bucal, cinco adultos de los cicadélidos *Oncometopia* sp, *Mareja* sp y *Parathona cayenensis*, junto con diez

adultos del mírido *Parafurius discifer*. Todos los insectos se mantuvieron, durante cinco días, en plantas de *D. rotundata* cultivadas en parcelas y naturalmente infectadas con YMMV, dicha infección se corroboró mediante diagnóstico molecular. Para las pruebas de detección del YMMV se empleó la técnica IC-RT-PCR utilizando los cebadores propuestos por Munford y Seal (1997) (CP2F: 5' GGC ACA CAT GCA AAT GAA AGC 3') y (UTR2R: 5' CAC CAG TAG AGT GAA CAT AG 3') y anticuerpos para Potyvirus (Agdia® catálogo SRA 27200/0500), siguiendo la metodología propuesta por Álvarez et al. (2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis IC-RT-PCR resultaron positivos en las dos especies vegetales (Figura 1), confirmando la infección de los cultivos de *D. rotundata* con el Virus del mosaico suave del ñame y demostrando que *R. minima* es un arvense hospedero de este virus, que podría estar jugando un papel importante en la epidemiología del YMMV teniendo en cuenta que crece asociada y en los alrededores de los cultivos de ñame. Según Dallot et al. (2001) y Guzmán et al. (2001) existe una alta incidencia de Potyvirus en los cultivos de ñame en la Región Caribe de Colombia y reportan síntomas como moteados y mosaicos; así como también la infección de estos con YMMV.

Payares (2002) y Guzmán et al. (2001) reportan la presencia de una gran variedad de arvenses hospederas de Potyvirus, asociadas a ñame en Sucre, las cuales presentan síntomas virales como mosaico, manchas cloróticas y deformación foliar, similares a los observados

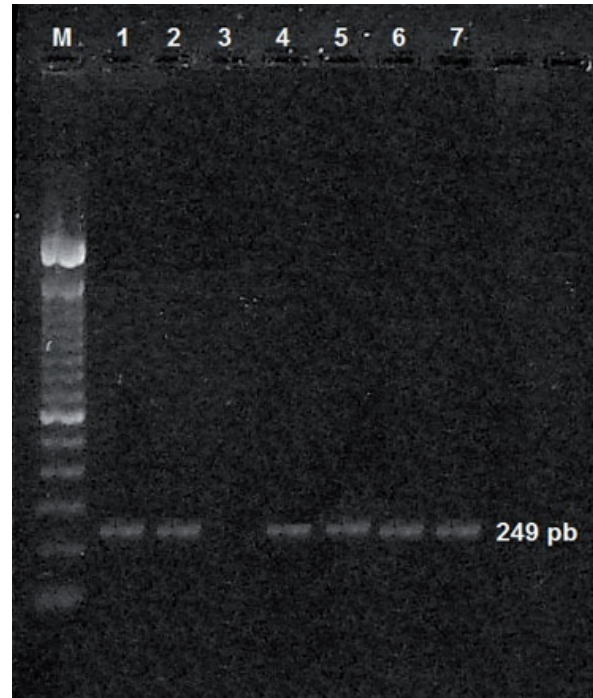


Figura 1. Diagnóstico del YMMV mediante IC-RT-PCR. M: Marcador de peso molecular (100 bp DNA Ladder Invitrogen®); 1 y 2: *R. minima*; 3: *P. discifer*; 4: *D. rotundata*; 5-7: *P. cayenensis*, *Oncometopia* sp, *Mareja* sp respectivamente.

en las plantas de estos cultivos. Si bien la sola presencia de virus en el follaje de arvenses no necesariamente significa que se transmitirá al cultivo, su existencia es un factor clave en la transmisión de la enfermedad ya que existe relación entre los virus que están presentes en las plantas cultivadas y los que están en los arvenses asociados (Ormeño y Sepúlveda 2005; Ormeño et al. 2006).

Estudios como los de Redinbaugh et al. (2002), Oluwafemi et al. (2007), Todd et al. (2010) y Akhtar et al. (2011), señalan que los insectos de la familia Cicadellidae son capaces de transmitir virus en importantes cultivos agrícolas. Hasta la fecha, el único cicadélido reportado como vector de virus en ñame es *Oncometopia* sp que transmite el Virus del mosaico suave del

ñame en *Dioscorea rotundata* (Álvarez et al. 2011). Los resultados de este estudio confirman que *Oncometopia* sp es capaz de adquirir este virus y demuestran que los adultos de *Mareja* sp y *Parathona cayenensis* también tienen la capacidad de adquirir el YMMV a partir de plantas de ñame infectadas (Figura 1), por lo que es necesario tenerlos en cuenta y realizar ensayos para determinar si también son capaces de transmitir dicho virus. Los adultos del mírido *Parafurius discifer* no fueron capaces de adquirir el YMMV pero se advierte sobre el daño mecánico que estos pueden causar en el tejido foliar de las plantas de ñame.

CONCLUSIONES

Se reporta por primer vez la capacidad de adquisición del Virus del mosaico suave del ñame por los cicadélidos *Mareja* sp y *Parathona cayenensis* y al arvense *R. minima* como hospedero alternativo de este virus.

REFERENCIAS

Akhtar, K., Ahmad, M., Shah, T. y Atta, B. 2011. Transmission of Chickpea chlorotic dwarf virus in chickpea by the leafhopper *Orosius albicinctus* (Distant) in Pakistan. *Plant Protection Science* 47:1-4.

Álvarez, A. 2000. Prácticas agronómicas para el cultivo del ñame, En: Guzmán, M. y Buitrago, G. (ed). Ñame: producción de semilla por biotecnología. Unibiblos, Bogotá, Colombia, p33-39.

Álvarez, D., Pérez, A., Díaz, J., Maestre, M. y Beltrán, J. 2011. Transmisión del Virus del mosaico suave del ñame a

Dioscorea rotundata (Dioscoreaceae) por *Oncometopia* sp (Cicadellidae). *Revista Colombiana de Entomología* 37(1):77-79.

Apablaza, G., Apablaza, J., Reyes, P. y Moya, E. 2003. Determinación de insectos vectores en malezas aledañas a cultivos hortícolas. *Revista Ciencia e Investigación Agraria* 30(3):175-186.

Dalot, S., Bousalem, M. y Guzman, M. 2001. Occurrence of potyviruses on yam (*Dioscorea* spp) in Colombia and first molecular characterization of Yam mild mosaic virus. *Plant Disease* 85(7):803.

Freytag, F. y Sharkey, M. 2002. A preliminary list of the leafhoppers (Homoptera) of Colombia. *Revista Biota Colombiana* 3(2):235-283.

Guzmán, M., Bermudez, Y. y Castro, C. 2001. Identificación del Virus del mosaico suave del ñame (YMMV) en muestras colombianas de *Dioscorea alata* caracterización biológica, serológica y molecular. *Revista Colombiana de Biotecnología* 3:72-79.

Munford, R. y Seal, S. 1997. Rapid single tube immunocapture RT-PCR for the detection of two yam potyviruses. *Journal of Virological Methods* 69:73-79.

Odu, B., Asiedu, R., Shoyinka, S. y Hughes, J. 2006. Screening of water yam (*Dioscorea alata* L.) genotypes for reactions to viruses in Nigeria. *Journal of Phytopathology* 154:716-724.

- Oluwafemi, S., Jackai, L. y Alegbejo, M. 2007.** Comparison of transmission abilities of four Cicadulina species vectors of Maize Streak Virus from Nigeria. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 124:235–239.
- Ormeño, J. y Sepúlveda, P. 2005.** Presencia de diferentes virus del pimiento (*Capsicum annum* L.) en especies de malezas asociadas al cultivo. *Agricultura Técnica* 65(4):343-355.
- Ormeño, J., Sepúlveda, P., Rojas, R. y Araya, J. 2006.** Datura genus weeds as an epidemiological factor of Alfalfa mosaic virus (AMV), Cucumber Mosaic virus (CMV), and Potato virus Y (PVY) on solanaceous crops. *Agricultura Técnica* 66(4):333-341.
- Payares, I. 2002.** Evaluación de la incidencia de la enfermedad de la virosis del ñame (*Dioscorea* spp) en cinco municipios de sucre. Tesis Biología, Universidad de Sucre, Sincelejo.
- Redinbaugh, M., Seifers, D., Meulia, T., Abt, J., Anderson, R., Styer, W., Ackerman, J., Salomon, R., Houghton, W., Creamer, R., Gordon, D. y Hogenhout, S. 2002.** Maize fine streak virus, a new leafhopper-transmitted rhabdovirus. *Phytopathology* 92:1167-1174.
- Todd, J., Ammar, E., Redinbaugh, M., Hoy, C. y Hogenhout, S. 2010.** Plant host range and leafhopper transmission of Maize fine streak virus. *Phytopathology* 100:1138-1145.