

Identificación y caracterización genética de un nuevo totivirus asociado a *Bursera graveolens* en Ecuador

Problema

El nuevo totivirus podría ser el responsable de originar los síntomas que afectan a *B. graveolens*.

Objetivo General

Caracterizar a nivel genético el nuevo totivirus, con la finalidad de determinar mediante estudios posteriores si este virus se encuentra asociado con los síntomas observados.

Metodología

En 2020, se colectaron hojas de *B. graveolens* con síntomas típicamente asociados a virus, como moteado clorótico y rizado, en Prosperina, un sector ubicado al oeste de Guayaquil, Ecuador (-2.151364, -79.953438). Las hojas fueron sometidas a extracción de ARN de doble cadena (ARNdc). El ARNdc se usó para la preparación de una librería de ADN complementario (ADNc) seguido de secuenciación de alto rendimiento (HTS, por sus siglas en inglés). La secuenciación se realizó en una plataforma NextSeq 500 Illumina con lecturas de 75 pb. Los datos obtenidos se analizaron utilizando las herramientas disponibles en Geneious Prime® 2022.0.1.

Resultados

La secuenciación produjo un total de 14,607,877 lecturas, de las cuales se ensambló un total de 2,418 contigs. Los contigs fueron analizados con BLASTx, lo que identificó uno de 4,771 nt con homología a varios miembros del género *Totivirus*. No se identificaron otros contigs similares a virus en esta muestra. El nuevo virus fue nombrado provisionalmente *Bursera graveolens* asociado totivirus 1 (BgTV-1) y su genoma consiste en una molécula de ARNdc de 4,794 nt (número de acceso de GenBank ON988291) (Fig. 1). El análisis filogenético realizado a la polimerasa colocó a BgTV-1 en un clado con otros totivirus asociados a plantas (Fig. 2). Las comparaciones de secuencias de aminoácidos (aa) de proteínas encontradas en BgTV-1 mostraron las identidades más altas con las de taro-associated totivirus L (QFS21890.1-QFS21891.1) y *Panax notoginseng* virus A (YP_009225664.1- YP_009225665.1), con 51.4% y 49.8% de identidad a nivel de la cápside, respectivamente, mientras a nivel de la polimerasa 56.4% y 55.2% de identidad, respectivamente.

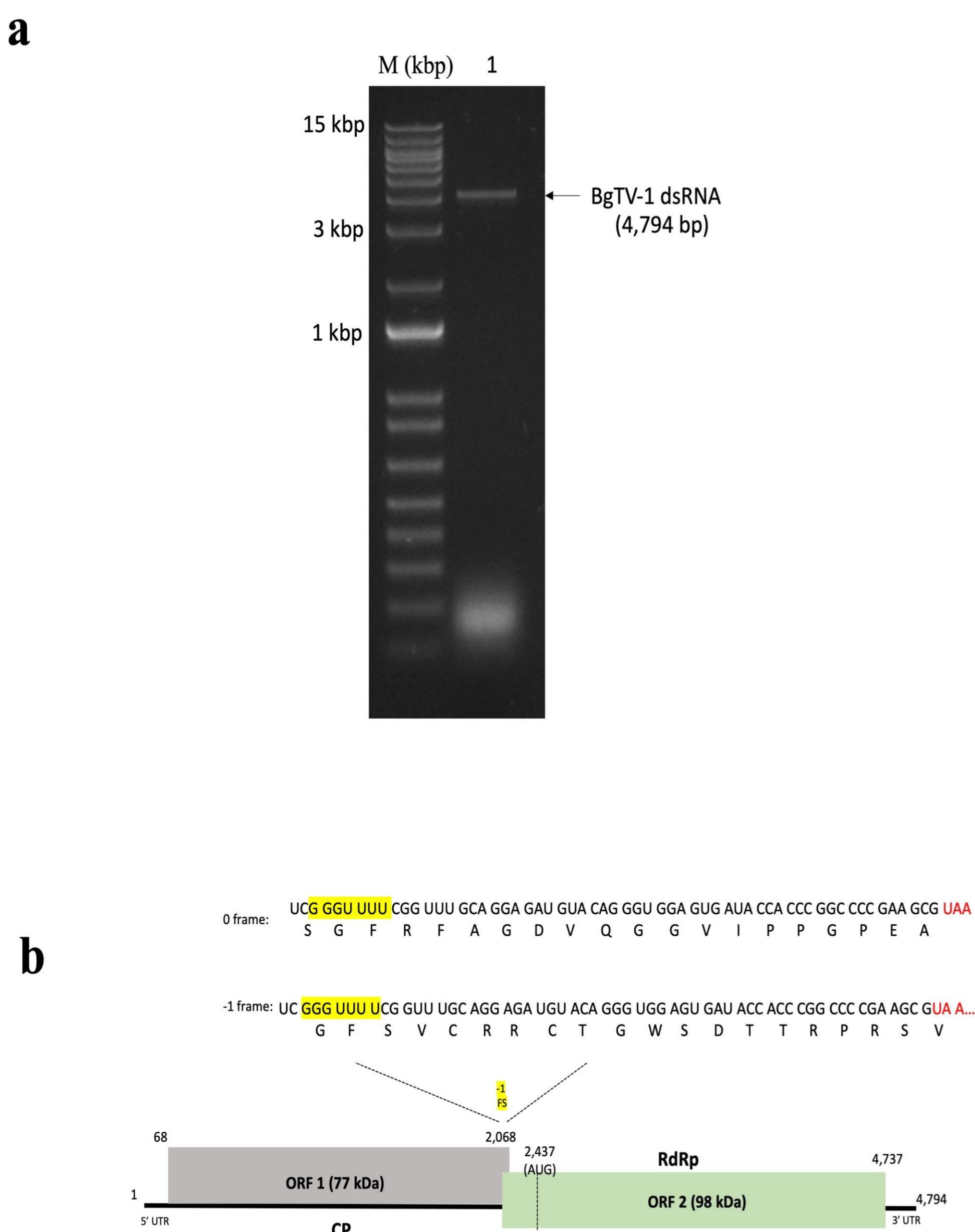


Fig. 1. (A) Electroforesis de RNA doble cadena (RNAdc) extraído de hojas sintomáticas de *B. graveolens* en gel de agarosa al 1%. M, marcador de ADN (Promega de 1 kb); carril 1, dsRNA. (B) Representación esquemática de la organización genómica de BgTV-1 con marcos abiertos de lectura (ORF's) indicados. CP: proteína de la cápside, RdRp: ARN-polimerasa dependiente de ARN, las regiones terminales 5' y 3' (UTR's), el color amarillo indica el sitio heptamérico donde se predice que ocurrirá el cambio de marco -1. La imagen no está dibujada a escala.

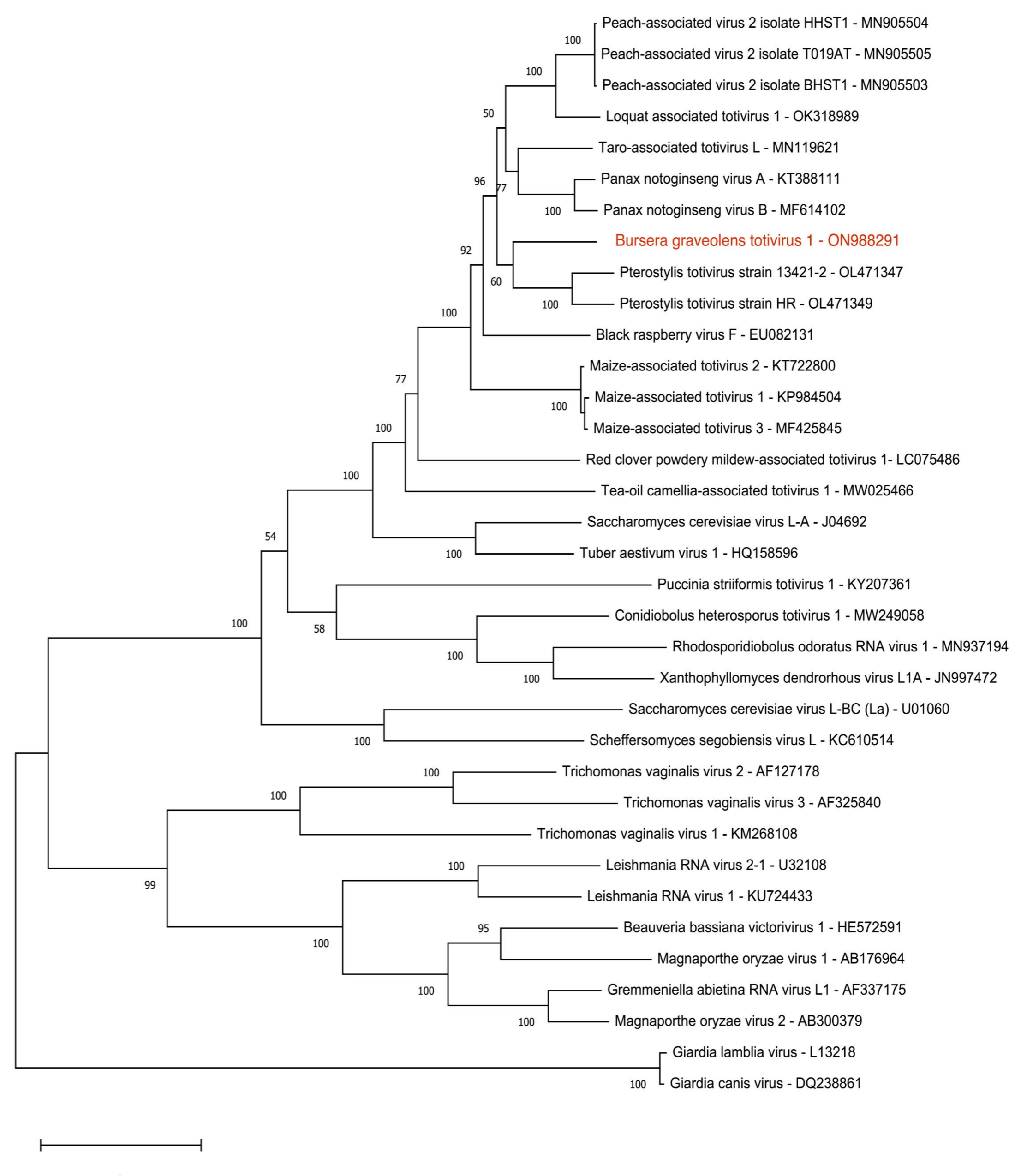


Fig. 2. Análisis filogenético de máxima verosimilitud de las secuencias de aminoácidos deducidas de la proteína gag-pol de miembros representativos de la familia *Totiviridae*. El modelo de mejor ajuste fue LG+G+I+F con 1000 réplicas. El árbol filogenético se construyó utilizando MEGA X. Los valores de Bootstrap se dan en los nodos.

Conclusiones

A pesar de que en estudios recientes se ha identificado totivirus en plantas, generalmente, éstos son considerados virus que infectan hongos. En este estudio, no se detectaron hongos endófitos en hojas de *B. graveolens* positivas para BgTV-1, lo que sugiere que se trata de un totivirus vegetal. Considerando que BgTV-1 fue encontrado en un nuevo hospedero y las comparaciones de secuencias de aa de la CP resultan por debajo del 50%, BgTV-1 debería ser considerado un nuevo miembro del género *Totivirus*.

Agradecimientos

Los autores agradecen a M.Sc. Marcos Vera Morales por su asistencia en el ensayo de hongos endófitos.