

Caracterización biológica de un nuevo cytorhabdovirus descubierto en Ecuador

Problema

Papaya virus E (PpVE) podría estar involucrado en alguna enfermedad en papaya al interactuar con otros virus, por ello es importante conocer las formas en que se transmite y sus reservorios naturales.

Objetivo General

Determinar las formas de transmisión de PpVE.

Metodología



Fig. 1. Jaula a prueba de insectos, en la zona media plantas de *M. lathyroides* infectadas con PpVE, a la izquierda plantas de *C. papaya* y a la derecha plantas de *M. lathyroides*.

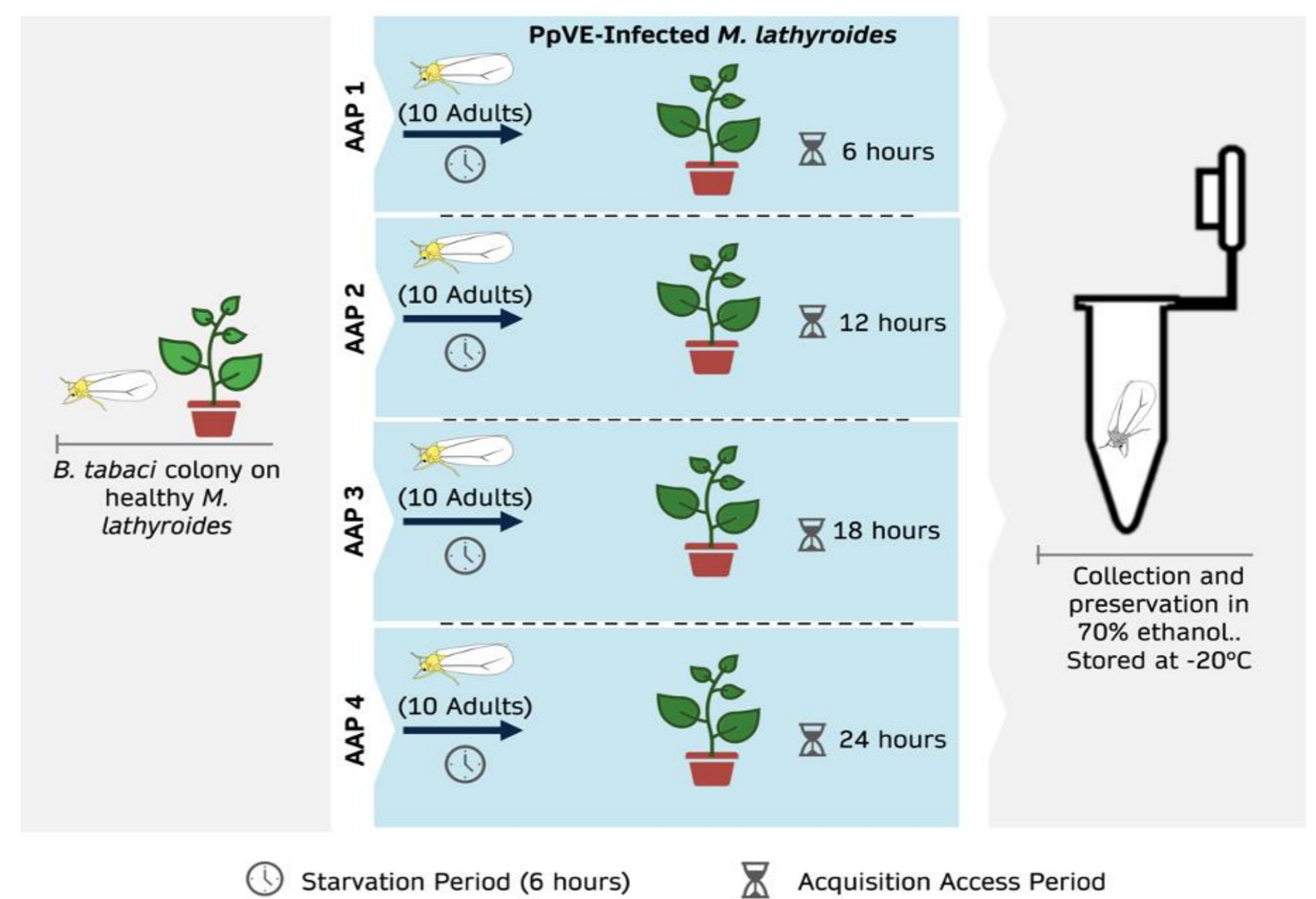


Fig. 2. Experimento 1: a diferentes grupos de diez moscas blancas adultas "no virulíferas" (*Bemisia tabaci*) se les permitieron diferentes períodos de adquisición del virus (AAP) y al terminar fueron recopilados para realizar detección de virus.

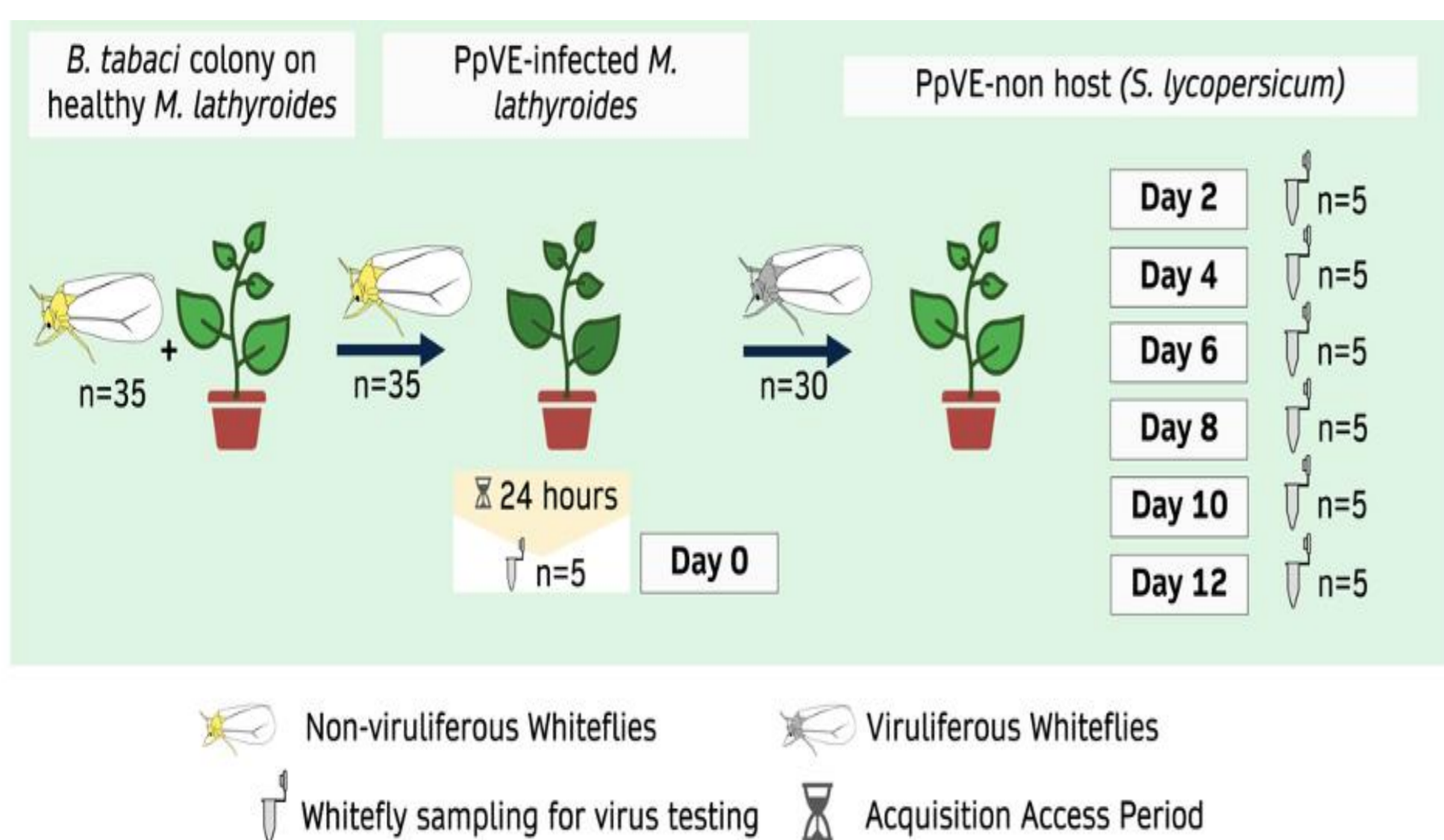


Fig. 3. Experimento 2: a un grupo de 35 moscas blancas "no virulíferas" se les permitió un período de adquisición de virus (AAP) de 24 horas y se transfirieron a una planta no susceptible (tomate). Se tomaron muestras de cinco moscas por grupo en intervalos de dos días durante un máximo de doce días. El día 0 indica la hora inmediatamente posterior a las 24 horas del PAA. Los insectos muestreados fueron mantenidos en etanol al 70% a -20 C hasta la detección del virus.

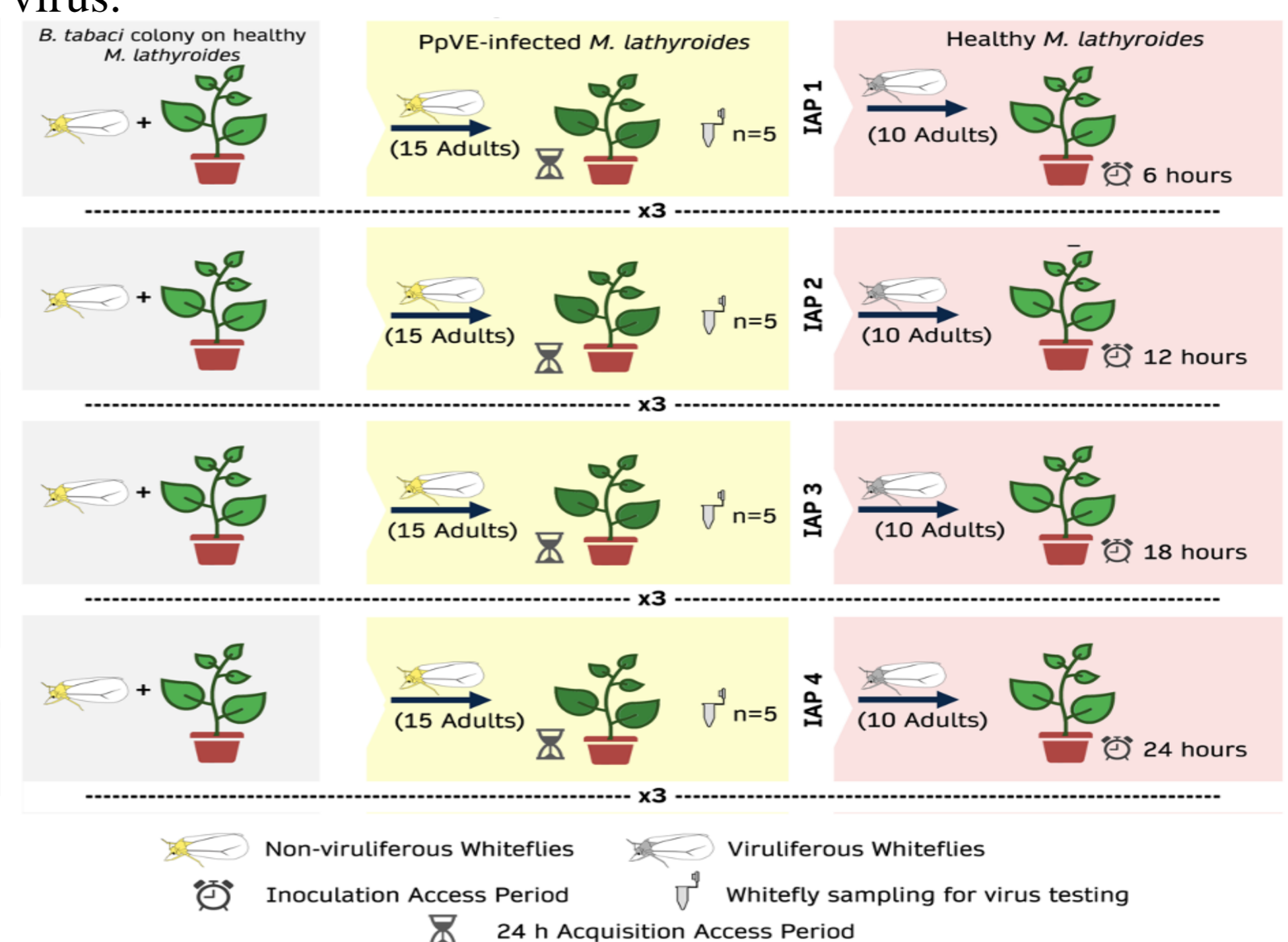


Fig. 4. Experimento 3: a grupos de quince moscas blancas adultas se les permitió un período de adquisición de virus (AAP) de virus de 24 horas y se transfirieron a plantas de *M. lathyroides* sanas para establecer diferentes períodos de inoculación del virus a una planta sana (IAP). Antes de cada IAP, se tomaron muestras de cinco moscas blancas para realizar detección de virus. Cada IAP fue repetido tres veces. Las plantas inoculadas se analizaron para detectar PpVE a los 90 días después de la inoculación.

Resultados

Los ensayos de transmisión demostraron que PpVE es transmitido por mosca blanca (*Bemisia tabaci*), de forma semi-persistente. El ensayo RT-qPCR detectó PpVE en el 60% (valor CT promedio = 34) y el 100% (valor CT promedio = 30) de las moscas blancas a las que se les permitieron AAP de 18 y 24 h, respectivamente. No hubo curva de amplificación en las moscas blancas testeadas después de AAP de 6 o 12 h. Cuando a las moscas blancas se les permitió una AAP fija de 24 h y luego se transfirieron a un no hospedero, las curvas de amplificación mostraron una reducción sostenida de la concentración de PpVE a lo largo del tiempo, ya que los valores promedio de CT pasaron de 29,3 (justo después de las 24 h AAP) a 38,8 en moscas blancas recolectadas ocho días después de la AAP. No hubo una curva de amplificación para las moscas blancas recolectadas más allá de ese tiempo. Los resultados del experimento IAP, utilizando un AAP fijo de 24 h, fueron consistentes con los de los experimentos anteriores. Se detectó PpVE en tres de las tres plantas inoculadas en las que se permitieron IAP de 24 h o 48 h, mientras que solo una de las tres plantas a las que se les permitió una IAP de 12 h dio positivo para el virus en 90 días post inoculación. No se observó detección en plantas en las que a las moscas blancas se les permitió una IAP de 6 h. No se evidenció transmisión mecánica, ni mediante semilla. Los injertos resultaron exitosos para transmitir el virus. Las arvenses: *Rinchosia minima*, *Centrosema plumieri* y *Macroptilium lathyroides* mostraron ser hospederos naturales para el virus.

Conclusiones

En este estudio, investigamos el modo de transmisión de PpVE mediado por su insecto vector *B. tabaci*. Desarrollamos un ensayo de detección sensible mediante RT-qPCR, que fue capaz de detectar tan solo 142 copias virales mezcladas en ARN total de insectos. Estimamos una AAP mínima de 18 h, determinada por la capacidad de detectar el virus mediante RT-qPCR; mientras que una IAP mínima de 12 h fue necesaria para dar como resultado la infección por virus en *M. lathyroides*. No se observó acumulación de virus en moscas blancas después de una AAP fija de 24 h; en cambio, se observó una reducción sostenida en los títulos virales durante un período de 8 días.