



COMUNICACIÓN BREVE

Distribución y caracterización molecular de los virus SCYLV, SCMV en *Saccharum* sp. y PRSV-P en *Carica papaya* en Cuba

Distribution and molecular characterization of the viruses SCYLV, SCMV in *Saccharum* sp. and PRSV-P in *Carica papaya* in Cuba

Osmany Aday-Díaz^{1*} , Yaquelin Puchades Izaguirre¹ , Dariel Cabrera Mederos^{2,3} ,
José Efraín González Ramírez⁴ , Orelvis Portal^{5,6} 

¹ Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar, Carretera CUJAE km 2 ½, Boyeros, La Habana, Cuba, CP 19 390

² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Unidad de Fitopatología y Modelización Agrícola, Av. 11 de septiembre 4755, Córdoba X5020ICA, Argentina

³ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Centro de Investigaciones Agropecuarias, Instituto de Patología Vegetal Ing. Agr. Sergio Fernando Nome, Av. 11 de septiembre 4755, X5020ICA, Córdoba, Argentina

⁴ Departamento de Virología de Plantas, Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales, Santo Domingo, Villa Clara, Cuba, CP 53 000

⁵ Centro de Investigaciones Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carretera a Camajuaní km 5 ½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba, CP 54 830

⁶ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carretera a Camajuaní km 5 ½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba, CP 54 830

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Recibido: 10/10/2020
Aceptado: 09/12/2020

CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaran no existir conflictos de intereses.

CORRESPONDENCIA

Osmany Aday-Díaz
osmany.aday@inicavc.azcuba.cu



RESUMEN

Entre las enfermedades más importantes en *Saccharum* spp., se destacan sugarcane yellow leaf virus (SCYLV) y sugarcane mosaic virus (SCMV). En *Carica papaya* L., papaya ringspot virus (PRSV-P) causa una de las enfermedades más destructivas. El objetivo de esta investigación fue determinar la distribución en Cuba de estos virus y su caracterización molecular. Se realizaron prospecciones y diagnóstico molecular mediante RT-PCR. En el caso de SCMV, se realizó secuenciación directa. Se realizaron análisis filodinámicos con 34 secuencias de aislados cubanos de PRSV-P y 107 secuencias de aislados del continente americano e islas del Caribe. SCYLV y PRSV-P se encuentran ampliamente distribuidos en Cuba. De SCYLV se informa la existencia de las razas BRA-PER, CUB y REU, y de SCMV una sola raza. Los aislados cubanos de PRSV-P y del continente americano e islas del Caribe mostraron un ancestro común. SCYLV y PRSV-P constituyen un peligro

potencial para los agricultores.

Palabras clave: análisis filodinámico, RT-PCR, secuenciación, virus

ABSTRACT

Among the most important diseases in *Saccharum* spp., sugarcane yellow leaf virus (SCYLV) and sugarcane mosaic virus (SCMV) stand out. In *Carica papaya* L., papaya ringspot virus (PRSV-P) causes one of the most destructive diseases. The objective of this research was to determine the distribution in Cuba of these viruses and their molecular characterization. Prospecting and molecular diagnosis were carried out by RT-PCR. In the case of SCMV, direct sequencing was performed. Phylodynamic analyzes were performed with 34 sequences from Cuban PRSV-P isolates and 107 sequences from isolates from the American continent and Caribbean islands. SCYLV and PRSV-P are widely distributed in Cuba. From SCYLV the existence of the races BRA-PER, CUB and REU was reported, and from SCMV a single race. The Cuban isolates of PRSV-P and from the American continent and Caribbean islands showed a common ancestor. SCYLV and PRSV-P constitute a potential hazard to farmers.

Keywords: phylodynamic analysis, RT-PCR, sequence, virus

La producción de caña de azúcar (*Saccharum* sp.), es vulnerable a sugarcane mosaic virus (SCMV) (Potyvirus, Potyviridae) and sugarcane yellow leaf virus (SCYLV) (Polevirus, Luteoviridae). SCYLV ha evolucionado a través de varios eventos de recombinación por intercambio del material genético infectado (Marwal y Gaur, 2020). La infección de ambos virus en una misma planta incrementa la severidad de estas enfermedades y causa degeneración de los cultivares (Viswanathan, 2016). Por su parte, papaya ringspot virus (PRSV-P) (Potyvirus, Potyviridae) causa una de las enfermedades más destructivas en *Carica papaya* L. En PRSV-P la recombinación y selección tiene también un papel significativo. Estudios de diversidad de secuencias de aislados de PRSV revelan una alta variabilidad y recombinación (Mishra *et al.*, 2019). El objetivo de esta investigación fue determinar la distribución en Cuba de los virus SCYLV, SCMV y PRSV, así como su diversidad a través de una caracterización molecular.

En el caso de SCYLV, se realizó la toma de muestras en 13 provincias durante los meses de enero y febrero de 2011, y abarcó 14 cultivares de caña de azúcar. Durante los meses de febrero y marzo de 2011, se evaluó el 46,8 % del material genético del banco de germoplasma (1 603 muestras). Se realizó primero la detección

inmunoquímica por inmunodetección directa de tejidos (IDT). La detección molecular de SCYLV se realizó por Transcripción Reversa - Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR).

A partir de ADNc se realizó la RT-PCR, según Girard *et al.* (2012), con cebadores genéricos: SCYLVf1 (5'-GACAGACTCGGCCAGTGGTC GTG-3') y SCYLVr1 (5'-GTAAGCCATTGTTG AACGCTGCG-3'). Para determinar la presencia de las razas BRA-PER, CUB y REU de SCYLV (de mayor importancia por su distribución en el mundo), se usaron cebadores específicos de cada raza del SCYLV.

Para caracterizar la diversidad de los aislados de SCMV, se colectaron muestras de hojas de caña de azúcar del cultivar infectado 'B34104' en tres estaciones experimentales del INICA en las provincias Matanzas, Camagüey y Holguín. Se realizó la extracción de ARN y posteriormente la reacciones de RT-PCR para la identificación de SCMV. Se realizó secuenciación directa de los productos resultantes. Las secuencias fueron depositadas en las bases de datos públicas GenBank (www.ncbi.nlm.gov/genbank.com) y analizadas junto a otras 23 correspondientes a aislados de SCMV, sorghum mosaic virus (SrMV) y maize dwarf mosaic virus (MDMV). Se utilizó el algoritmo Clustal X para la comparación y alineamiento de las mismas.

La prospección para la detección de PRSV-P se realizó en jardines y plantaciones de *C. papaya* cultivadas en 47 municipios, en el periodo entre 2008 y 2013. La detección del virus se realizó mediante el método ELISA (del inglés: Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay). Para la identificación por RT-PCR, se realizó una extracción de ARN total de las hojas con síntomas de la enfermedad y cebadores diseñados para la posterior amplificación del fragmento deseado. Se realizaron análisis filodinámicos con el gen de la proteína de la cápsida (CP) de aislados cubanos de PRSV-P (34 secuencias) y 107 secuencias de aislados del continente americano e islas del Caribe.

El SCYLV se detectó en las 13 provincias analizadas. El 85,39 % de las muestras por IDT resultaron positivas. El virus se detectó en el 85,3 % de las muestras con síntomas y en el 85,7 % de las asintomáticas. En el banco de germoplasma se detectó en el 42,7 % de las muestras con síntomas y en el 40,7 % de las asintomáticas. En 18 muestras de cinco cultivares comerciales, procedentes de ocho provincias, se determinó la presencia de tres razas de SCYLV: BRA-PER, CUB y REU. En Artemisa y Matanzas se detectaron infecciones mixtas de las razas BRA-PER + REU y BRA-PER + CUB, respectivamente. En el banco de germoplasma de la caña de azúcar también se detectó la presencia de estas razas y el predominio de BRA-PER y CUB. Se determinó la infección mixta de CUB + REU; la raza CUB predominó en plantaciones comerciales (55,6 %) y en el banco de germoplasma (57,6 %) (Aday-Díaz *et al.*, 2014).

Se amplificó un fragmento específico del gen de la CP de los aislados de SCMV colectados en Matanzas, Camagüey y Holguín. El análisis de las secuencias reveló la existencia de una similitud genética de 99 % con SCMV y confirmó a este virus como único agente causal de la enfermedad “mosaico de la caña de azúcar” en Cuba. Los números de acceso asignados en GenBank para cada aislamiento fueron: KM096755 (Florida, Camagüey), KM096756 (Jovellanos, Matanzas) y KM096757 (Guaro, Holguín) (Aday-Díaz *et al.*, 2017).

En el árbol filogenético, los aislamientos de SCMV colectados en caña de azúcar (SCMV-SC) quedaron separados de los procedentes de maíz (SCMV-M), las variantes de SrMV se diferencian en dos grupos. El aislado de MDMV quedó independiente. En el grupo SCMV-SC se incluyen variantes virales de diferentes regiones geográficas del que forman parte los aislados cubanos de Florida, Jovellanos y Guaro. Estos mostraron una similitud genética de 99 % y los define como una única raza de SCMV (Puchades *et al.*, 2016).

La prospección de PRSV-P reveló que este se encuentra ampliamente distribuido en Cuba. Fue identificado en 36 de las 70 localidades estudiadas (51,43 %), con una prevalencia general del 49,55 %. Los valores más altos de incidencia e índice de la enfermedad se registraron en las provincias Pinar del Río, Artemisa, Villa Clara, Sancti Spiritus y Las Tunas (Cabrera Mederos *et al.*, 2019).

El análisis de las secuencias de nucleótidos de la CP de aislados cubanos (n = 34) reveló valores de identidades entre 92,4 y 99,7 %, y los valores más bajos se observaron entre aislados de distintas regiones geográficas. La mayor variabilidad se observó entre los aislados de la región centro-occidente con los aislados de la región este. Se detectaron cuatro bloques EK (ácido glutámico-lisina), bien definidos en las secuencias de los aislados cubanos, los cuales posiblemente tienen una relación con la distribución geográfica del PRSV-P. Las similitudes en el bloque EK encontradas entre los aislados del PRSV mexicanos y cubanos apoyan una posible relación con su distribución geográfica (Cabrera Mederos *et al.*, 2019).

Los análisis filodinámicos realizados con el gen de la CP de aislados cubanos del PRSV-P (34 secuencias) y 107 secuencias de aislados del continente americano y las islas del Caribe mostraron un ancestro común más reciente en 1942 (HPD95 % = 1911-1967). La diversidad del virus aumentó en el periodo 1985-1990, con la implementación de extensas prácticas de producción. En Cuba ocurrió una dispersión del virus principalmente desde México, área ancestral para el origen de la diversificación del PRSV en el continente

americano y sugiere nuevos eventos de dispersión entre los aislados de América y el Caribe (Cabrera Mederos *et al.*, 2019).

CONTRIBUCIÓN DE CADA AUTOR

Osmany Aday-Díaz: Diseñó la investigación, coordinó, planificó y ejecutó las actividades de investigación, fue el responsable de escribir el manuscrito publicado, así como la rectificación de los señalamientos realizados por el Consejo Editorial y los árbitros del documento.

Yaquelin Puchades Izaguirre: Contribuyó a la organización, análisis y síntesis de la información obtenida. Contribuyó en la escritura del manuscrito y la rectificación de los señalamientos realizados al mismo.

Dariel Cabrera Mederos: Conceptualizó y formuló los objetivos generales de la investigación. Fue responsable de la gestión, coordinación, planificación y ejecución de las actividades de investigación.

José Efraín González Ramírez: Contribuyó al diseño de la investigación, evaluó y recopiló los datos obtenidos en las pruebas de los experimentos.

Orelvis Portal: Conceptualizó y formuló los objetivos generales de la investigación, coordinó, planificó y ejecutó las actividades de investigación. Contribuyó a la escritura del manuscrito publicado y la rectificación de los señalamientos realizados al mismo por los árbitros y Consejo Editorial.

BIBLIOGRAFÍA

ADAY-DÍAZ, O., LA O, M., PUCHADES, Y., *et al.* 2017. Genotyping of sugarcane yellow leaf

virus in commercial cultivars and the Cuban germplasm collection. *Sugar Tech*, 19: 102-108.

ADAY-DÍAZ, O., LA O, M., ZARDÓN NAVARRO, M.A., *et al.* 2014. Distribución del virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar en Cuba. *Revista Protección Vegetal*, 29: 177-184.

CABRERA MEDEROS, D., GIOLITTI, F., TORRES, C., *et al.* 2019. Distribution and phylodynamics of papaya ringspot virus on *Carica papaya* in Cuba. *Plant Pathology*, 68: 239-250.

ç
GIRARD, J.C., FERNÁNDEZ, E., DAUGROIS, J.H., *et al.* 2012. Genetic diversity of sugarcane yellow leaf virus in a sugarcane selection plot in Guadeloupe (FWI). *International Sugar Journal*, 114: 96-100.

MARWAL, A. and GAUR, R.K. 2020. Phylogenetic and recombination analyses of sugarcane yellow leaf virus isolates. *Sugar Tech*, 22: 540-545.

MISHRA, R., PATIL, S., PATIL, A. 2019. Sequence diversity studies of papaya ringspot virus isolates in South India reveal higher variability and recombination in the 5'-terminal gene sequences. *Virus Disease*, 30: 261-268.

PUCHADES, Y., LA O, M., MONTALVÁN, J., *et al.* 2016. Genetic and symptomatic characterization of sugarcane mosaic virus (SCMV) in Cuba. *Sugar Tech*, 18: 184-191.

VISWANATHAN, R. 2016. Varietal degeneration in sugarcane and its management in India. *Sugar Tech*, 18: 1-7.



Artículo de libre acceso bajo los términos de una *Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional*. Se permite, sin restricciones, el uso, distribución, traducción y reproducción del documento, siempre que la obra sea debidamente citada.