

Estrategias de control del virus del rizado amarillo del tomate

Proyectos para obtener plantas resistentes a este virus, conocido como TYLCV

Cuando se observa al microscopio electrónico, TYLCV presenta la morfología característica de los geminivirus, con una cápsida formada por la unión de dos subunidades idénticas. En el interior de cada virión de TYLCV, se localiza el genoma del virus en forma de una molécula de DNA circular de cadena sencilla. El número de moléculas que componen el genoma de TYLCV varía dependiendo de la especie, desde una (virus monopartitos) a dos (virus bipartitos).

En el genoma de las especies de TYLCV monopartitas, como las presentes en España, se identifican seis genes denominados CP, V2, Rep, C2, C3 y C4. Adicionalmente, existe una región que no contiene ningún gen, denominada región intergénica (IR), situada entre los genes Rep y V2, donde se localiza el origen para la replicación del genoma.

En España se han localizado dos especies de TYLCV. La especie denominada TYLCV-Sr fue detectada por primera vez en 1992 en zonas del suroeste español. En 1997 se detectó la presencia de otra especie, denominada TYLCV-IL, capaz de infectar además de tomate, judía y pimiento. Las zonas afectadas por esta infección se corresponden con áreas de cultivo de las provincias de Málaga, Granada, Almería, Murcia, Alicante y Valencia. Este año se ha detectado la presencia de TYLCV-IL también en la provincia de Barcelona y de TYLCV-Sr en las Islas Canarias.

TYLCV es transmitido por *Bemisia tabaci*. Este insecto, de 1 mm de tamaño, conocido popularmente como la mosca blanca del tabaco, algodón o boniato es capaz, además, de transmitir otros grupos de virus (carlavirus, closterovirus, potyvirus, nepovirus y crinivirus). Su ciclo de vida tiene una duración aproximada de 21 días, en los que las hembras depositan en el envés de las hojas entre 100 y 300 huevos, que al eclosionar producen larvas que pasan por varios

El virus del rizado amarillo del tomate (TYLCV) es un Begomovirus perteneciente a la familia de los geminivirus. Este virus es la causa de una de las enfermedades más importantes que afecta a los cultivos de tomate a nivel mundial. En los últimos 15 años el TYLCV se ha extendido rápidamente, y hoy en día está presente en casi todas las zonas de América, Asia, África y Europa cuyo clima permite el cultivo del tomate.

Maribel Franco, Gabriel Morilla y Eduardo R. Bejarano. Departamento de Genética. Universidad de Málaga.



Planta de tomate con los síntomas típicos de la infección por TYLCV.

estadios hasta alcanzar su forma adulta. Durante gran parte de su desarrollo, estas larvas son inmóviles.

Para controlar las infecciones por virus, se pueden adoptar distintas estrategias dirigidas a impedir su entrada en la planta, mediante el control del vector que lo transmite, o bien impidiendo la replicación y/o propagación del virus en los tejidos de la planta.

Control del vector

El control del vector de transmisión puede realizarse de tres maneras diferentes: control químico, control físico y control biológico.

- Control químico. El empleo de insecticidas contra *B. tabaci* es una de las estrategias que mejor resultado ha dado hasta la fecha para combatir la enfermedad producida por TYLCV. Se han utilizado productos como imidacloprid, cypermethrin, imidacloprid, buprofezin o endosulfán. Sin embargo, estos productos no están exentos de problemas como la aparición de insectos parcial o totalmente resistentes.

- Control físico. En los cultivos de invernadero, se pueden utilizar, como medidas físicas de protección frente a la mosca blanca, mallas que impiden el contacto de la planta con el insecto o plásticos que absorben la luz ultravioleta, que disminuyen la intensidad de la infección, ya que eliminan parte de la radiación que el insecto necesita para "ver" la planta de la que se alimenta.

Una de las medidas generalmente adoptadas, tanto en cultivos al aire libre, como en los de invernadero, es el empleo de láminas amarillas de polietileno impregnadas con alguna sustancia pegajosa, hacia las que las moscas se sienten atraídas, quedando adheridas a las mismas.

- Control biológico. El control biológico es una estrategia alternativa para el control de la mosca blanca, basada en el uso de enemigos naturales del vector. El desarrollo de es-

tos sistemas de control podría permitir la reducción o incluso la eliminación del uso de insecticidas. Entre los parásitos más importantes de *B. tabaci*, se encuentran los pertenecientes a los géneros *Encarsia* y *Eretmocerus*.

Control en la planta

En varios laboratorios del mundo se están llevando a cabo proyectos para obtener plantas resistentes a TYLCV mediante la introducción, en las plantas, de fragmentos de DNA del virus o de especies de plantas relacionadas. Para llevar a cabo este proceso, se han utilizado tanto técnicas de mejora tradicional como de transformación genética.

- Resistencias codificadas por la planta. Se conocen varios ejemplos de genes de plantas que producen resistencia a TYLCV. Desgraciadamente, estos genes no se encuentran en *Lycopersicon esculentum*, pero

TYLCV es transmitido por la mosca blanca del tabaco, que deposita sus huevos en el envés de las hojas.



sí en otras especies silvestres del mismo género (*Lycopersicon*). Las resistencias encontradas en *L. pimpinellifolium* han sido las más utilizadas, ya que no existen barreras de hibridación entre esta especie y el tomate.

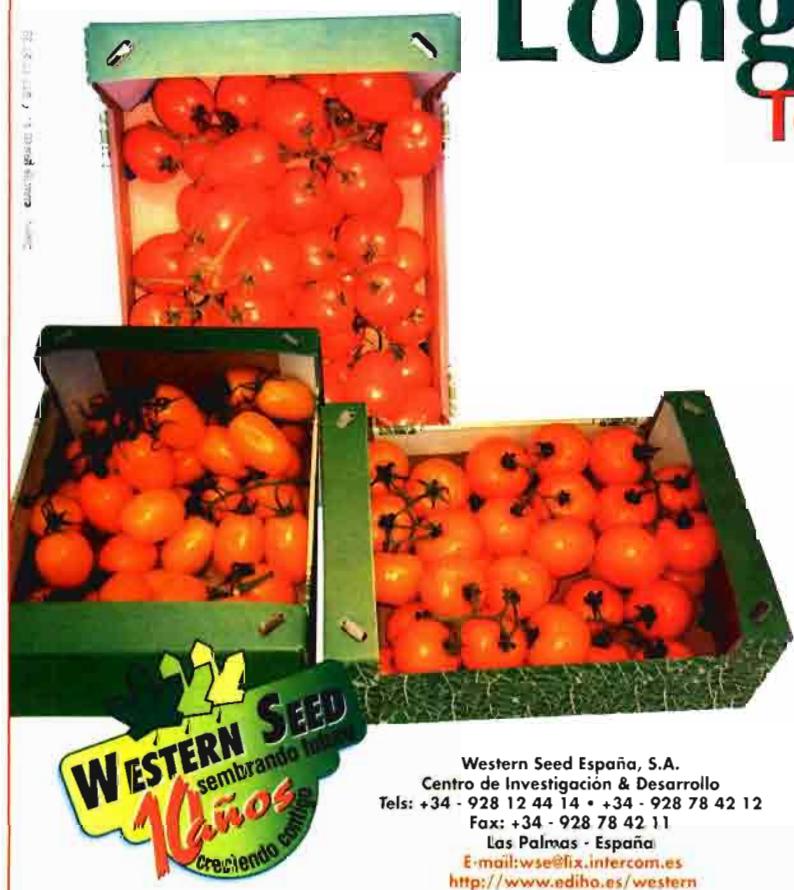
El primer programa de cruzamiento para

transferir esta resistencia a tomate se llevó a cabo con la accesión LA 121 de *L. pimpinellifolium*. Posteriormente, se encontró tolerancia a TYLCV en la accesión PI 126935 de *L. peruvianum* y del cruzamiento de plantas de esta accesión con tomate se obtuvo el híbrido TY 20. También se ha encontrado tolerancia en diferentes accesiones de *L. cheesmanii* y *L. hirsutum*. Los últimos estudios apuntan a *L. chilense* como la mejor fuente de resistencia, a pesar de la existencia de barreras interespecíficas que impiden la obtención eficiente de híbridos con *L. esculentum*.

- Resistencias codificadas por el virus. En ocasiones, la infección de una planta con un virus conlleva la "inmunización natural" de la planta contra infecciones posteriores del mismo virus o de virus relacionados. Este fenómeno, que recibe el nombre genérico de protección cruzada, es

Long Shelf Life

Tomates para el mundo



Semillas

¡Naturalmente!

Western Seed España, S.A.
Centro de Investigación & Desarrollo
Tels: +34 - 928 12 44 14 • +34 - 928 78 42 12
Fax: +34 - 928 78 42 11
Las Palmas - España
E-mail: wse@ix.intercom.es
<http://www.ediho.es/western>

Western Seed México, S.A. de C.V.
Oficina de Venta y Comercialización
Tels: +52 - 3122 5286 • +52 - 3122 3449
Fax: +52 - 3122 4181
Guadalajara - México
E-mail: westernc@prodigy.net.mx

Western Seed International B.V.
Oficina de Venta y Comercialización
Tel: +31 - 174 648283
Fax: +31 - 174 648199
Naaldwijk - Holanda
E-mail: wseurope@caii.nl
<http://www.westernseed.nl>

conocido desde la antigüedad y ha sido utilizado para disminuir los daños producidos por la infección con estirpes virulentas de un virus. La estrategia consiste en infectar deliberadamente las plantaciones con una estirpe avirulenta o atenuada de un virus para prevenir infecciones con virus más agresivos de la misma especie o especies relacionadas.

Pueden ser varios los mecanismos responsables del efecto de protección cruzada y entre ellos se encuentra la producción de partículas subgenómicas durante la infección. Estas partículas son moléculas que se pueden formar durante el proceso de infección y que contienen una copia parcial del genoma del virus, incluyendo siempre el origen de replicación. Su producción conlleva la disminución de la replicación del genoma viral, por competencia con la maquinaria de replicación.

En el caso de TYLCV se ha demostrado que la infección de distintas plantas de tomate con mutantes de TYLCV de baja virulencia puede proteger eficientemente frente a aislados silvestres y virulentos de TYLCV. Esta resistencia no es debida a la formación de partículas subgenómicas, ya que éstas no se han encontrado nunca en infecciones para TYLCV.

• Obtención de resistencias por ingeniería genética. Con la puesta a punto de las técnicas de ingeniería genética, se han desarrollado diversas estrategias para la obtención de plantas resistentes a TYLCV basadas en la introducción de secuencias de nucleótidos de diferentes orígenes, que codifican para funciones no relacionadas con mecanismos de resistencia a patógenos. La estrategia más utilizada consiste en la introducción en las plantas de un fragmento del genoma del virus para la obtención de plantas resistentes al mismo. Este tipo de resistencias ha dado hasta la fecha buenos resultados a nivel de laboratorio y ya existen variedades de plantas resistentes a virus que están en proceso de comercialización.

En el caso de TYLCV, se han utilizado tres estrategias para el desarrollo de este tipo de resistencia:

1) Expresión de genes del virus. Para TYLCV existen dos ejemplos de resistencia de este tipo: la expresión de la proteína de la cápsida (CP) de la especie TYLCV-IL y la expresión de la proteína truncada del gen Rep de TYLCV-Sr. Las plantas expresando CP desarrollan síntomas al ser infectadas por TYLCV-IL, aunque la intensidad de los



Cultivo de tomate en invernadero de Almería afectado por el virus.

mismos es muy inferior a la de las plantas control, y en la mayoría de ellas estos síntomas terminan por desaparecer. Se ha postulado que el mecanismo por el cual se produce la resistencia es mediante la inhibición del transporte del virus hacia el núcleo de la célula vegetal.

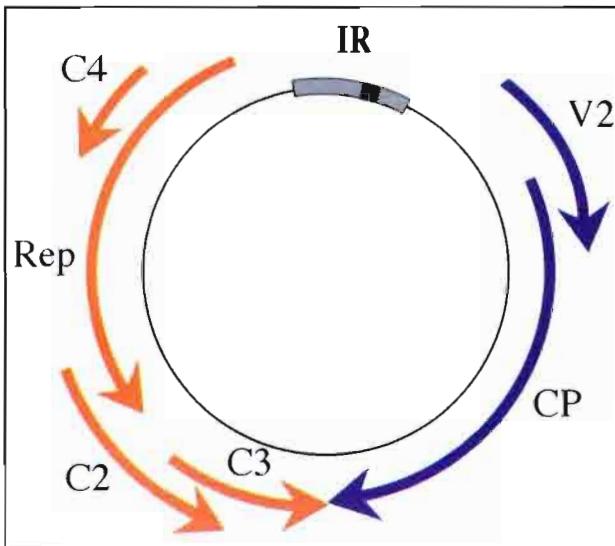
La expresión de la proteína truncada del gen Rep produce la disminución o ausencia de los síntomas de la enfermedad, aunque dicha resistencia viene acompañada de la aparición en las plantas de fenotipos anormales,

debido posiblemente a la toxicidad de la proteína truncada.

2) Expresión de RNA-antisentido. La producción de RNA-antisentido consiste en la expresión de un RNA mensajero (RNAm) que es complementario al RNAm que codifica para una determinada proteína vírica. Esta es una estrategia muy utilizada para la supresión de la expresión génica en muchos organismos. Esta estrategia se ha utilizado para obtener plantas de *Nicotiana benthamiana* resistentes a TYLCV-Sr, mediante la expresión del RNA antisentido del gen Rep.

3) Producción de partículas subgenómicas del virus. La transformación de plantas con genomas parciales del virus atenúa la aparición e intensidad de los síntomas, debido posiblemente a que compiten con el geminivirus por la maquinaria de replicación del DNA. Aunque esta estrategia no se ha probado con TYLCV, sí ha dado buenos resultados para proteger frente a una infección con otro geminivirus (el virus africano del mosaico de la mandioca, ACMV). La producción de estas partículas subgenómicas está supeditada al establecimiento de una infección por el virus, que aporta las proteínas necesarias para que se produzca la replicación de ambas moléculas.

En nuestro laboratorio se ha desarrollado una estrategia mixta para la obtención de plantas resistentes a TYLCV, basada en la expresión amplificable del RNA-antisentido del gen Rep. Esta estrategia combina el RNA-antisentido con el concepto de partículas subgenómicas. El RNA-antisentido se expresa a partir de un casete integrado en el genoma de la planta. En presencia del virus, este casete es amplificado produciendo moléculas circulares extracromosómicas, capaces de replicarse, que producen RNA-antisentido del gen Rep. Disponemos de plantas transgénicas de *N. benthamiana* que contienen las construcciones para la expresión amplificable del RNA-antisentido del gen Rep de TYLCV-Sr. Los resultados obtenidos tras la infección con TYLCV-Sr (aislado español), sugieren que las construcciones desarrolladas confieren cierto nivel de resistencia frente a este virus. Sin embargo, no confieren resistencia frente a TYLCV-IL que también se encuentra presente en España, ya que la producción de las moléculas extracromosómicas depende del reconocimiento entre la proteína Rep del virus y el origen de replicación presente en el casete. ■



Esquema del genoma de TYLCV monopartito. Las flechas corresponden a los genes.