

Nuevas especies de begomovirus que afectan cultivos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y soya (*Glycine max* (L. Merr) en Cuba

AUTORES PRINCIPALES: Lidia Chang Sidorchuk¹, Yamila Martínez Zubiaur¹

OTROS AUTORES: Heidy González Álvarez¹, Elvira Fiallo Olivé², Jesús Navas Castillo²

COLABORADORES: Yenne Marrero Álvarez¹, Andrés Martínez Márquez³, Antonio Enrique Joya García³

ENTIDAD EJECUTORA PRINCIPAL: ¹ Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Carretera de Tapaste y Autopista Nacional. San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

OTRAS ENTIDADES PARTICIPANTES:

² Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora” (IHSM-UMA-CSIC), Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Estación Experimental "La Mayora", 29750 Algarrobo-Costa, Málaga, España.

³ Dirección Provincial de Agricultura, Mayabeque.

AUTOR PARA CORRESPONDENCIA:

Yamila Martínez Zubiaur

Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria

Aptado 10 CP-32700. Mayabeque.

Teléfono: 047 63014. Fax: 047 98104

Email: yamila@censa.edu.cu

RESUMEN

El género *Begomovirus* es el más numeroso dentro de la familia *Geminiviridae*, sus especies son transmitidas por la mosca blanca *Bemisia tabaci* causando numerosas pérdidas a cultivos de gran importancia económica. En Cuba han sido detectadas varias especies de begomovirus afectando cultivos de importancia. En este trabajo se describe la caracterización de dos nuevas especies de begomovirus bipartitos infectando el cultivo del frijol: Common bean mottle virus y Common bean severe mosaic virus. Por otra parte, se determinó la presencia de Tobacco leaf curl Cuba virus en este cultivo con la identificación, por primera vez, del componente B de esta especie y se estudió la variabilidad de aislados de Bean golden yellow mosaic virus en la provincia de Mayabeque a más de 15 años posteriores a su detección en el país. En el cultivo de soya se identificó por primera vez en Cuba la presencia de Rhynchosia golden mosaic Yucatan virus. Estos resultados constituyen una actualización de la situación fitosanitaria de ambos cultivos. Además, son tenidos en consideración para el fortalecimiento del programa de vigilancia fitosanitaria y manejo que se ejecuta en el país para el control del complejo mosca blanca-geminivirus en cultivos de interés económico; así mismo, para la evaluación de nuevos cultivares de frijol y la incorporación de resistencia a estas nuevas especies virales.

Los resultados del trabajo se publicaron en revistas de alto factor de impacto como *Archives of Virology* y *Journal of Plant Pathology*, y se encuentran en edición en otras dos revistas. Se han presentado en eventos nacionales e internacionales y ha obtenido un premio CITMA-Mayabeque 2016.

COMUNICACIÓN CORTA

Los begomovirus son patógenos de plantas que en las últimas décadas han causado importantes pérdidas a cultivos de interés económico en regiones tropicales y subtropicales. El género *Begomovirus* es el más numeroso y de mayor importancia de la familia *Geminiviridae* (Brown y col., 2015). Sus miembros poseen un genoma circular encapsidado en partículas geminadas y son transmitidos por moscas blancas (*Bemisia tabaci*). El genoma puede ser monopartito o bipartito (Fondong, 2013).

En Cuba han sido detectadas numerosas especies de begomovirus afectando cultivos de gran importancia económica (Echemendía y col., 2001; Martínez-Zubiaur y col., 2002; Morán y col., 2006). Entre los años 2013 y 2016 se evidenciaron síntomas relacionados a la presencia de begomovirus, pero con mayor severidad, en campos comerciales de soya y frijol en la provincia de Mayabeque. Se colectaron muestras vegetales que mostraban síntomas tales como mosaicos, moteados y reducción del área foliar.

A partir del ADN extraído se realizó la amplificación por círculo rodante y posteriormente el análisis con enzimas de restricción pudo confirmar la presencia de varios begomovirus bipartitos. Se seleccionaron para la clonación y secuenciación de los genomas virales las muestras 6, 8, 24, 96, 99, 127 y 148. La clonación de los componentes virales se llevó a cabo en el vector pBluescript II SK (+) en *Escherichia coli* DH5 α . Los clones seleccionados se secuenciaron obteniéndose el genoma completo de las entidades virales. Para el análisis de secuencias se utilizaron los programas bioinformáticos correspondientes (Tamura y col., 2013; Muhire y col., 2014).

Los componentes ADN-A y ADN-B obtenidos de las siete muestras en estudio presentaron las características típicas de los begomovirus del Nuevo Mundo. El begomovirus aislado de la muestra 6 contiene un ADN-A de 2631 nt (número de acceso al GenBank: KX011473) que presenta el mayor porcentaje de identidad de 86.5% con *Rhynchosia mild mosaic virus* (FJ944019), un begomovirus encontrado infectando malezas de fabáceas como *Rhynchosia minima* en Puerto Rico (Brown and Idris, 2009). El ADN-B (2604 nt, KX011474) presentó el mayor porcentaje (77%) con el mismo begomovirus. Ambos componentes poseen una región común de 178 nt con una identidad de 92% indicando que ambos componentes virales constituyen pares cognados.

Los componentes ADN-A de las muestras 96 (KX011476) y 99 (KX011477) presentan un porcentaje de identidad de 94.6% entre ellas indicando la presencia de la misma especie viral en ambas muestras. El mayor porcentaje de identidad del ADN-A (87%) fue con *Rhynchosia golden mosaic Havana virus* (HM236368) y del ADN-B con *Rhynchosia mild mosaic virus* (FJ944020). La región común de ambos componentes virales presentó un porcentaje de identidad de 98%.

El ADN-A de la muestra 8 (KX011471) presenta el mayor porcentaje de identidad (97.8%) con *Tobacco leaf curl Cuba virus* (TbLCCuV) (AM050143), un begomovirus descrito en Cuba infectando el cultivo del tabaco (Morán y col., 2006) y recientemente se ha encontrado infectando áreas de producción de frijol de la provincia de Sancti Spíritus (Leyva y col., 2016). El ADN-B muestra el mayor porcentaje de identidad (82%) con *Wissadula golden mosaic virus* (GQ355487). Ambos componentes virales presentan una región común de 203 nucleótidos con una identidad del 98.5%.

El begomovirus presente en la muestra 24 de soya presentó un ADN-A (KT381193) con un alto porcentaje de identidad (93%) con *Rhynchosia golden mosaic Yucatan virus* (RhGMYuV) (EU021216), un begomovirus encontrado en malezas como *Rhynchosia minima* y *Desmonium* sp. en México. El DNA-B (KT381194) mostró el mayor porcentaje de identidad (91%) con RhYMYuV (FJ792608) y con *Rhynchosia rugose golden mosaic virus* (HM236371).

A partir de las muestras 127 y 148 se obtuvieron las secuencias completas del componente A viral, con una talla de 2644 (No de acceso al GenBank, KX185517) y 2645 (KX185518) nucleótidos respectivamente. Los análisis para el ADN-A con el programa SDT muestran que ambos aislados tienen un porcentaje de similitud del 98% con *Bean golden yellow mosaic virus* (AJ544531) (Echemendía y col., 2001).

Según el criterio definido por el Grupo de Estudio de la familia *Geminiviridae* del Comité Internacional de Taxonomía Viral (ICTV), el valor de corte del porcentaje de identidad nucleotídica del ADN-A para la demarcación de las especies en el género *Begomovirus* es del 91%. (Brown y col., 2015). De acuerdo a este criterio, en este trabajo se describen dos nuevas especies: *Common bean mottle virus* (muestra 6) y *Common bean severe mosaic virus* (muestras 96 y 99) afectando el cultivo del frijol, así como dos aislados de begomovirus previamente descritos: *Bean golden yellow mosaic virus* (muestra 127) y *Tobacco leaf curl Cuba virus* (muestra 8). En el cultivo de soya (muestra 24) se identificó por primera vez en Cuba la presencia de *Rhynchosia golden mosaic Yucatan virus*.

Estos resultados constituyen un claro ejemplo del paso de un begomovirus previamente encontrado en malezas a cultivos de interés económico, lo que hace evidente una vez más el

papel que juegan las arvenses y otras plantas silvestres como fuente de emergencia de begomovirus que infectan cultivos hortícolas importantes. El análisis filogenético de ambos componentes genómicos de todos los begomovirus identificados puso de manifiesto sus estrechas relaciones con otros aislamientos en regiones cercanas, fundamentalmente con virus de la región del Caribe.

La emergencia de begomovirus en fabáceas ha sido informada en varios países de América Latina en los últimos años (Fiallo-Olivé y col., 2013; Idris y col., 2003). Estos estudios fortalecerán los programas de vigilancia fitosanitaria y manejo que se ejecutan en el país para el control del complejo mosca blanca-geminivirus en cultivos de interés económicos.

Por otra parte, entre las medidas de control que deben ser tomadas, también es necesaria la introducción de cultivares resistentes. En Cuba los programas de mejoramiento del frijol desde finales de los años 90 e inicio del nuevo siglo, trabajaron por la incorporación de genes de resistencia al begomovirus BGYMV en cultivares nacionales (Echemendía y col., 2012). Esto permitió disminuir su incidencia en campo y por tanto disminuir las pérdidas, sin embargo, el incremento de los síntomas observados en los últimos años y los resultados de este trabajo confirman la necesidad de que los programas de mejoramiento del cultivo del frijol incorporen, además del BGYMV, estas nuevas especies dentro de sus estrategias de obtención y evaluación de cultivares.

La presente propuesta reivindica los resultados obtenidos en la caracterización molecular de nuevos begomovirus, que están afectando los cultivos de soya y frijol, así como la determinación de la organización genómica de las nuevas especies identificadas. Con este estudio se actualiza la situación fitosanitaria, particularmente del cultivo del frijol, dado que desde el año 2001 se atribuyen los daños observados en la producción a la presencia únicamente del BGYMV; sin embargo, se evidencia un incremento en la diversidad de begomovirus presentes en el frijol que incluyen nuevas especies y la presencia de especies previamente descritas en el cultivo del tabaco.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

Brown, J.K., Idris, A.M., 2009. A new, virulent, broad host range bean-infecting begomovirus from Puerto Rico: Rhynchosia mild mosaic virus. *Annu Rep Bean Improv Coop* 52:30

Brown, J.K., Zerbini, F.M., Navas-Castillo, J., Moriones, E., Ramos-Sobrinho, R., Silva, J.C., Fiallo-Olivé, E., Briddon, R.W., Hernández-Zepeda, C., Idris, A., 2015. Revision of *Begomovirus* taxonomy based on pairwise sequence comparisons. *Archives of virology* 160, 1593-1619.

Echemendía, A., Ramos, P., Peral, R., Fuentes, A., González, G., Sanpedro, J., Morales, F., 2001. Cuban isolate of Bean golden yellow mosaic virus is a Member of the Mesoamerican BGYMV Group. *Plant Disease* 85, 1030-1030.

Fiallo-Olivé, E., Márquez-Martín, B., Hassan, I., Chirinos, D.T., Geraud-Pouey, F., Navas-Castillo, J., Moriones, E., 2013. Complete genome sequences of two novel begomoviruses infecting common bean in Venezuela. *Archives of virology* 158, 723-727.

Fondong, V.N., 2013. Geminivirus protein structure and function. *Molecular Plant Pathology* 14, 635-649.

Idris, A., Hiebert, E., Bird, J., Brown, J., 2003. Two newly described begomoviruses of *Macroptilium lathyroides* and common bean. *Phytopathology* 93, 774-783.

Leyva, R.M., Quiñones, M., Acosta, K.I., Piñol, B., Xavier, C.D., Zerbini, F.M., 2016. First report of Tobacco leaf curl Cuba virus infecting common bean in Cuba. *New Disease Reports* 33.

Martínez-Zubiaur, Y., Quiñones, M., Fonseca, D., Potter, J., Maxwell, D., 2002. First report of Tomato yellow leaf curl virus associated with beans, *Phaseolus vulgaris*, in Cuba. *Plant Disease* 86, 814-814.

Morán, Y., Ramos, P., Domínguez, M., Fuentes, A., Sánchez, Y., Crespo, J., 2006. Tobacco leaf curl Cuba virus, a new begomovirus infecting tobacco (*Nicotiana tabacum*) in Cuba. *Plant Pathology* 55, 570-570.

Muhire, B.M., Varsani, A., Martin, D.P., 2014. SDT: a virus classification tool based on pairwise sequence alignment and identity calculation. *PLoS ONE* 9, e108277.

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S., 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular biology and evolution*, mst197.