

Nuevos Hospederos Alternativos de Begomovirus asociados con el Cultivo de Ají en el Valle del Cauca, Colombia

New Alternate Hosts of Begomoviruses associated with Chili Pepper Crops in Cauca Valley, Colombia

Juan Carlos Vaca-Vaca^{1,2}; Viviana C. Corredor-Saenz^{1,2}; Frenyiline Jara-Tejada^{1,2}, Dyanela Betancourt-Andrade^{1,2}, Karina Lopez-Lopez^{1,2,*}

¹Grupo IPMA Interacción Planta Microorganismo Ambiente, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. Carrera 32 # 12 – 00. Palmira, Colombia. ²Centro de Investigación e Innovación en Bioinformática y Fotónica - CIBioFi, Calle 13 No. 100-00, Edificio 320 No. 1069, Universidad del Valle, 760032 Cali, Colombia. *Autor para correspondencia: klopezl@unal.edu.co

Rec.: 24.01.2019 Acep.: 06.03.2019

Resumen

Los begomovirus (virus de plantas de DNA de cadena sencilla) son la principal amenaza para los cultivos en áreas subtropicales y tropicales. Existen varios estudios que muestran cómo evolucionan por mecanismos de intercambio genético, que ocurren en hospedantes alternativos, entre ellos las malezas o arvenses. Estas se encuentran ampliamente distribuidas y tienen una alta adaptabilidad al ambiente. El objetivo de este trabajo fue identificar nuevos hospederos alternos de begomovirus en malezas asociadas con cultivos de ají (*Capsicum* sp.) que crecen en el Valle del Cauca, Colombia. Para el estudio fueron recolectadas malezas con y sin síntomas virales alrededor de estos cultivos ubicados en los municipios de Zarzal, Vijes, Toro, Unión, Roldanillo y Guacarí, las cuales fueron clasificadas taxonómicamente en el Herbario Josep Cuatrecasas Arumí de la Universidad Nacional de Colombia. La detección de begomovirus se realizó mediante PCR utilizando cebadores universales que amplifican 400 pb, correspondientes a un fragmento del gen AR1 (CP) del componente A. Se recolectaron 179 malezas y en 13 de ellas (*Sida acuta*, *Malvastrum* sp, *Rivina humilis*, *Acalypha* sp, *Parthenium hysterophorus*, *Euphorbia hirta*, *Rhynchosia minima*) se detectó la presencia de begomovirus. Para malezas como *Sida acuta* y *Acalypha* sp., este es el primer informe como hospedero alternativo de begomovirus en Colombia y América Latina. Este resultado permite conocer nuevas familias como hospederas y también confirmar su presencia en otras malezas donde aquellos fueron detectados previamente en el Valle del Cauca. Los resultados en este estudio son de utilidad para obtener información adicional relacionada con la diversidad y la distribución de malezas como hospederos de begomovirus, con el fin de desarrollar métodos no solo para controlar el virus, sino también evitar su propagación mediante malezas a los cultivos con interés económico.

Palabras clave: ají; arvenses; begomovirus; *Capsicum* spp.; *Bemisia tabaci*.

Abstract

Begomoviruses (DNA viruses with circular genome) are one of the main threats to crops growing at subtropical and tropical areas around the world. There are many studies which have shown that begomoviruses evolve by mechanisms of genetic exchange, which can occur in alternate hosts such as weeds. Weeds are widely distributed throughout the world and have a high environmental adaptability. The goal of this investigation was to identify alternate hosts of begomoviruses in weeds associated with pepper (*Capsicum* spp.) crops growing in Cauca Valley, Colombia. Weeds with and without viral symptoms around of pepper crops located to the municipalities of Zarzal, Vijes, Toro, Unión, Roldanillo and Guacarí were collected. Their identity was conducted at the Herbarium of the Universidad Nacional of Colombia, Josep Cuatrecasas Arumí. The detection of begomovirus was performed by PCR using universal primers that amplify 400 bp, corresponding to a fragment of the viral coat protein gene. We collected 179 weeds and in 13 of them (*Sida acuta*, *Malvastrum* sp, *Rivina humilis*, *Acalypha* sp, *Parthenium hysterophorus*, *Euphorbia hirta*, *Rhynchosia minima*) were positive for begomovirus. For weeds such as *sida acuta* and *acalypha* sp, this is their first report as a host of begomovirus in Colombia and Latin America. These results provided us with new families as host of begomovirus and also confirmed the begomovirus presence in previously

reported weeds in Valle del Cauca. There is a pressing need to obtain additional information on the diversity and distribution of weeds as a host of begomoviruses, in order to develop not only virus control methods but also avoid the begomovirus spreading from weeds to crops of economic interest.

Keywords: begomoviruses; *Bemisia tabaci*; *Capsicum*; pepper; weeds.

Introducción

Los begomovirus, pertenecientes a la familia Geminiviridae, son virus de plantas que contienen DNA circular de cadena sencilla con uno (monopartito) o dos (bipartito) DNA-A y DNA-B componentes genómicos. Son transmitidos por la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) y actualmente son responsables de muchas enfermedades emergentes en cultivos agronómicos (Zerbini et al., 2017).

En las últimas dos décadas la presencia de begomovirus se ha incrementado notablemente convirtiéndose en un problema emergente debido a las mutaciones y recombinaciones genéticas que han sido identificadas (Lefeuvre y Moriones, 2015; Seal et al., 2006). Este incremento está asociado con la presencia de su principal vector (*B. tabaci*), un organismo con amplio rango de hospederos, alta capacidad de proliferación, resistencia a varios tipos de insecticidas y con capacidad de dispersión a través de varios pisos climáticos (Ambrozevicius, Calegario, Fontes, Carvalho, y Zerbini, 2002; da Silva et al., 2011; Gaur, Hohn, y Sharma, 2014; Navas-Castillo, Fiallo-Olivé, y Sánchez-Campos, 2011).

En Colombia se registra la presencia de begomovirus en cultivos de tomate localizados en los departamentos de Santander, Cundinamarca y Valle del Cauca, en sitios por encima de 1500 m.s.n.m. (Vaca-Vaca, Betancur-Pérez, y López-López, 2012). La conquista de nuevos nichos y adaptación a pisos altitudinales distintos, posiblemente es debido al cambio climático, en donde, de alguna manera, la mosca blanca cumple un papel fundamental, ya que logra afectar nuevos reservorios, como las arvenses, dando lugar a la ocurrencia de procesos de intercambio genético que favorecen la persistencia y propagación tanto de los begomovirus como de su insecto vector (Duffus, 1971; Marwal, Prajapat, y Gaur, 2014; Barreto, Hallwass, Aquino, y Inoue-Nagata, 2013).

Hasta la fecha se han reportado en GenBank 47 especies de begomovirus en arvenses. En Colombia se ha detectado la presencia en *Momordica charantia* (Cucurbitaceae), *Rivina humilis* (Phytolaccaceae), *Laportea estuans* (Urticaceae), *Amaranthus dubius* (Amaranthaceae), *Lantana camara* (Verbenaceae) (López-López, Otavo-Fiscal,

y Vaca-Vaca, 2012; López-López, Jara-Tejada, y Vaca-Vaca, 2014) y *Croton hirtus* (Euphorbiaceae) (Vaca-Vaca, Jara-Tejada, y López-López, 2018).

Por lo anterior, existe la necesidad urgente de obtener información adicional sobre la diversidad y distribución de arvenses asociadas con begomovirus en otros cultivos de importancia agronómica, entre ellos el ají (*Capsicum* spp.), que probablemente sirven de reservorios de virus. Teniendo en cuenta que Colombia es un país megadiverso, es posible que la diversidad de estos esté asociada con plantas acompañantes, lo que resulta importante para conocer las interacciones entre los virus y cómo las presiones de selección moldean su epidemiología para extenderse a cultivos de interés económico. De acuerdo con lo anterior, el objetivo de esta investigación fue identificar nuevos hospederos alternos de begomovirus en arvenses asociadas con el cultivo de ají en el Valle del Cauca, Colombia.

Materiales y métodos

Recolección de arvenses

Para el estudio fueron recolectadas hojas jóvenes de arvenses asociadas con el cultivo de ají, en los municipios de Zarzal, Vijes, Toro, Unión, Roldanillo y Guacarí. Las plantas presentaban los síntomas típicos de infección por begomovirus, consistentes en mosaicos amarillos, epinastias, clorosis foliar, abultamientos foliares, enanismo, retraso en el crecimiento y hojas asintomáticas (López López, et al., 2014).

Para la identificación taxonómica de las arvenses se utilizaron las claves de Gentry (1996), Mendoza-Cifuentes y Ramírez-Padilla (2004), además de la colaboración especial del Herbario Josep Cuatrecasas Arumí en la sede de la Universidad Nacional de Colombia, Palmira.

Extracción y calidad de DNA genómico total

Las pruebas moleculares se hicieron en muestras de 80 mg de material foliar de las arvenses recolectadas a partir de las cuales se extrajo el DNA vegetal utilizando Invisorb spin plant mini kit®. Para evaluar la calidad y concentración

de DNA vegetal obtenido se realizaron geles de agarosa al 0.8% para DNA y 1% para productos de PCR, siguiendo los protocolos reportados por Sambrook y Russell (2001). La visualización del DNA teñido con bromuro de etidio se hizo con transiluminador Molecular Imagen® Gel Doc™ XR+ and ChemiDoc™ XRS System (BioRad Hércules, CA, USA) y analizados con el software Quanta One 4.6.5. Para estimar el tamaño del DNA se usó el marcador de peso molecular 1 kb Plus DNA Ladder (ThermoFisherScientific®).

Detección de begomovirus por reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La detección de begomovirus se realizó mediante la técnica de PCR (polimerasa chain reaction) utilizando el juego de primers MP82 y MP16 que amplifican un fragmento del gen AR1 (cubierta de proteína) del componente A con un tamaño aproximado de 400 a 600pb (Umaharan, et al., 1998).

Resultados y discusión

Detección de begomovirus en las arvenses recolectadas

En total fueron recolectadas muestras de 179 arvenses (Tabla 1). De cada una de ellas se hizo una extracción de DNA total, de buena calidad y una concentración de 80 ng/ul, aproximadamente. Para evaluar la presencia de begomovirus, se realizó una PCR utilizando los primers descritos por Umaharan, et al., (1998), donde 13 muestras resultaron positivas entre las 179 arvenses recolectadas. Las muestras amplificaron un fragmento del gen AR1 con un tamaño aproximado de 400pb (Figura 1).

Tabla 1. Municipios de muestreo de arvenses como posibles hospederos de begomovirus, Valle del Cauca, Colombia.

Municipio	Arvenses recolectadas (No.)	Arvenses positivas para begomovirus
Zarzal	45	5
Vijes	43	3
Toro	46	1
Unión	23	2
Roldanillo	16	0
Guacarí	6	2
Total	179	13

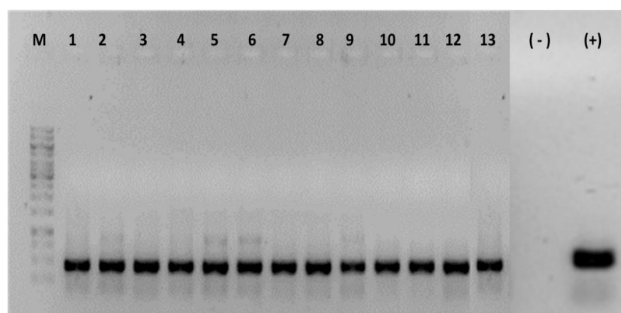


Figura 1. Amplificación viral por PCR de un fragmento de 400pb que comprende desde la región nonanucleotida conservada hasta el gen AR1 del genoma A de begomovirus. Gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio. 1, *Sida acuta* (Z2); 2, *Malvastrum* sp. (Z14); 3, *Malvastrum* sp. (Z16); 4, *Rivina humilis* (Z17); 5, *Acalypha* sp (Z19.); 6, *Phaseolus vulgaris* (V58); 7, *Parthenium hysterophorus* (V60); 8, No identificada (V62); 9, *Euphorbia hirta* (T119); 10, *Rhynchosia minima* (U137); 11, No identificada (U157); 12, *Rhynchosia minima* (G177); 13, *Euphorbia heterophylla* (G181); (-); Control Negativo; (+), Control positivo; M, marcador de peso molecular Gene Ruler 1 kb DNA Ladder Fermentas.

Clasificación taxonómica de arvenses positivas para begomovirus

Las especies recolectadas e identificadas positivas fueron identificadas taxonómicamente como *Sida acuta*, *Rivina humilis*, *Acalypha* sp., *Phaseolus vulgaris*, *Parthenium hysterophorus*, *Euphorbia hirta*, *Rhynchosia minima* y *E. heterophylla* (Tabla 2). Para dos arvenses no fue posible realizar la identificación de especie debido a la ausencia de frutos y flores.

Tabla 2. Clasificación taxonómica de arvenses positivas para begomovirus recolectadas en cultivos de ají en el Valle del Cauca, Colombia.

Referencia Arvense	Familia	Nombre científico	Municipio	Sintomatología
Z2	Malvaceae	<i>Sida acuta</i>	Zarzal	Mosaicos
Z14	Malvaceae	<i>Malvastrum</i> sp	Zarzal	Mosaicos
Z16	Malvaceae	<i>Malvastrum</i> sp	Zarzal	Mosaicos
Z17	Phytolaccaceae	<i>Rivina humilis</i>	Zarzal	Mosaicos
Z19	Euphorbiaceae	<i>Acalypha</i> sp	Zarzal	Mosaicos
V58	Fabaceae	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Vijes	Mosaicos y deformación
V60	Asteraceae	<i>Parthenium hysterophorus</i>	Vijes	Mosaicos
V62	Fabaceae	No identificada	Vijes	Mosaicos
T119	Euphorbiaceae	<i>Euphorbia hirta</i>	Toro	Asintomática
U137	Fabaceae	<i>Rhynchosia minima</i>	Unión	Mosaicos y epinastias
U157	Verbenaceae	No identificada	Unión	Asintomática
G177	Fabaceae	<i>Rhynchosia minima</i>	Guacarí	Mosaicos
G181	Euphorbiaceae	<i>Euphorbia heterophylla</i>	Guacarí	Asintomática

Arvenses hospederas de begomovirus

La detección de begomovirus por PCR en las arvenses recolectadas, permitió conocer nuevas familias como hospederas y ratificar aquellas previamente descritas. El grupo de investigación IPMA (Interacción-Planta-Microorganismo-Ambiente) perteneciente a la universidad Nacional de Colombia sede Palmira, previamente había descrito la presencia begomoviral en las arvenses: *Momordica charantia*, *R. humilis*, *Laportea aestuans*, *Amaranthus dubius*, *Lantana cámara*, *Malvastrum* sp., *Desmodium* sp., *E. hirta*, *E. heterophylla*, *Parthenium hysterophorus* y *Croton hirtus* previamente recolectadas en Palmira, Florida, Ginebra, Cerrito y Candelaria, Valle (López-López et al., 2014; Vaca-Vaca et al., 2018).

En la presente investigación fueron identificados dos nuevos hospederos alternativos para begomovirus en Colombia, los cuales fueron recolectados en Zarzal (Figura 2). Se trata de *S. acuta* que fue reportado como un nuevo hospedero para Colombia y *Acalypha* sp. que se reporta por primera vez como un nuevo hospedero para América Latina y el Caribe, resaltando así la importancia de la distribución geográfica y la alta diversidad de hospederos alternos de begomovirus. No obstante, no se sabe con certeza, si: (1) los begomovirus en Colombia se encontraban de forma latente en las arvenses, (2) con la llegada de *B. tabaci* migraron a plantas cultivadas, (3) ocurrió el fenómeno contrario.

Estos resultados confirman que en el cultivo de aji en el Valle del Cauca (Colombia) las arvenses son un importante hospedero viral silvestre, ya que su vector principal, la mosca blanca, puede migrar de ellas a ciertos cultivares, convirtiéndose de esta forma en uno de los principales devastadores de cultivos de importancia económica (Jabłońska-Sabuka, Kalaria, y Kauranne, 2015).



Figura 2. Nuevas arvenses como hospederos alternativos de begomovirus presentes en Zarzal, Valle del Cauca (Colombia). **A**, *Sida acuta* (Z2); **B**, *Acalypha* sp. (Z19).

Conclusiones

En un total de 179 arvenses recolectadas en sitios próximos a cultivos de aji en los municipios de Zarzal, Vijes, Toro, Unión, Roldanillo y Guacarí (Valle del Cauca, Colombia) se encontraron como positivas para hospederos alternativos de begomovirus las especies: *Sida acuta*, *Malvastrum* sp, *Rivina humilis*, *Acalypha* sp, *Parthenium hysterophorus*, *Euphorbia hirta*, *Rhynchosia minima*, *Rhynchosia minima*.

Sida acuta constituye el primer reporte en Colombia como arvense hospedera de begomovirus. Para la arvense *Acalypha* sp. este es el primer reporte en América Latina.

La identificación de nuevos hospederos alternativos de begomovirus es una alternativa para la toma de acciones correctivas tendientes a la eliminación de arvenses hospederas de este virus, como método efectivo de control contra la diseminación de este género de la familia gemiviridae.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira y al Proyecto CIBioFi financiado con recursos del Sistema General de Regalías de Colombia (BPIN-2013000100007), Colciencias, Gobernación del Valle del Cauca y la Empresa Hugo Restrepo y Cia. S. A.

Referencias

Ambrozevicus, L. P.; Calegario, R. F.; Fontes, E. P. B.; Carvalho, M. G. De. y Zerbini, F. M. 2002. Genetic diversity of begomovirus infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. *Fitop. Bras.* 27(4):372-377. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582002000400006>.

- Barreto, S. S.; Hallwass, M.; Aquino, O. M. y Inoue-Nagata, A. K. 2013. A Study of Weeds as Potential Inoculum Sources for a Tomato-Infecting Begomovirus in Central Brazil. *Phytopathology* 103(5):436–444. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-12-0174-R>.
- da Silva, S. J. C.; Castillo-Urquiza, G. P.; Hora Júnior, B. T.; Assunção, I. P.; Lima, G. S. A.; Pio-Ribeiro, G. y Zerbini, F. M. 2011. High genetic variability and recombination in a begomovirus population infecting the ubiquitous weed *Cleome affinis* in northeastern Brazil. *Arch. Virol.* 156(12):2205–2213. <https://doi.org/10.1007/s00705-011-1119-4>.
- Duffus, J. E. 1971. Role of Weeds in the Incidence of Virus Diseases. *Annual Review of Phytopathology*, 9(1):319–340. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.09.090171.001535>.
- Gaur, R. K.; Hohn, T. y Sharma, P. 2014. *Plant Virus – Host Interaction. Molecular Approaches and Viral Evolution*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411584-2.01001-5>.
- Gentry, A. H. 1996. *A field guide to the families and genera of woody plants of northwest South America (Colombia, Ecuador, Peru) :with supplementary notes on herbaceous taxa*. University of Chicago Press. 895 pp
- Jabłońska-Sabuka, M.; Kalaria, R. y Kauranne, T. 2015. A dynamical model for epidemic outbursts by begomovirus population clusters. *Ecol. Mod.* 297: 60–68. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLMO-DEL.2014.11.008>
- Lefeuvre, P. y Moriones, E. 2015. Recombination as a motor of host switches and virus emergence): geminiviruses as case studies. *Current Opinion in Virology* 10: 14–19. <https://doi.org/10.1016/J.COVIRO.2014.12.005>
- López-López, K., Jara-Tejada, F., y Vaca-Vaca, J. C. 2014. Nuevos Hospederos alternativos de begomovirus identificados en Valle del Cauca. *Fitopatología Colombiana*. 38(1):19-23. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/307953172_nuevos_hospederos_alternativos_de_begomovirus_identificados_en_valle_del Cauca_new_alternative_hosts_of_begomovirus_identified_in_valle_del Cauca
- López-López, K.; Otavo-Fiscal, D. y Vaca-Vaca, J. C. 2012. Búsqueda de hospederos alternativos del virus del mosaico amarillo de la papa, un begomovirus que afecta cultivos de tomate en el Valle del Cauca. *Acta Agronomica*. 61(SPL.ISS.):24–25.
- Marwal, A.; Prajapat, R. y Gaur, R. K. 2014. In Silico Recombination Analysis of DNA-A sequence from Begomovirus reported in India): This identified recombinant is the evolution from other viruses prevailing at different geographical region of Pakistan and China. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* Vol. 3. Retrieved from <http://www.ijcmas.com>.
- Mendoza Cifuentes, H. y Ramírez Padilla, B. 2004. *Plantas con flores de La Planada : guía ilustrada de familias y géneros. F. para la E. Superior., Fondo Mundial para la Naturaleza., y I. de I. de R. B. A. von H. Colombia*. Eds. Instituto Alexander von Humbolt. Retrieved from <https://www.unicauca.edu.co/gea/?q=node/125>.
- Navas-Castillo, J.; Fiallo-Olivé, E. y Sánchez-Campos, S. 2011. Emerging Virus Diseases Transmitted by Whiteflies. *Ann. Rev. Phytop.* Vol. 49. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-072910-095235>.
- Sambrook, J. y Russell, D. W. 2001. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2028 pp
- Seal, S. E.; VandenBosch, F. y Jeger, M. J. 2006. Factors influencing begomovirus evolution and their increasing global significance: Implications for sustainable control. *Critical Rev. Plant Sci.* 25(1):23–46.
- Umaharan, P.; Padidam, M.; Phelps, R. H.; Beachy, R. N. y Fauquet, C. M. 1998. Distribution and diversity of geminiviruses in Trinidad and Tobago. *Phytopathology*. 88(12):1262-1268.
- Vaca-Vaca, J. C.; Betancur-Pérez, J. F. y López-López, K. 2012. Distribución y diversidad genética de Begomovirus que infectan tomate (*Solanum lycopersicum* L) en Colombia. *Revi. Col. Biotech.* 14(1):60–76. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&id=S0123-34752012000100007ynrm=iso.
- Vaca-Vaca, J. C.; Jara-Tejada, F. y López-López, K. 2018. Croton golden mosaic virus: a new bipartite begomovirus isolated from *Croton hirtus* in Colombia. *Archives of Virology*. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3989-1>.
- Zerbini, F. M.; Briddon, R. W.; Idris, A.; Martin, D. P.; Moriones, E.; Navas-Castillo, J.; ... y Consortium, I. R. 2017. ICTV Virus Taxonomy Profile: Geminiviridae. *J. General Virol.* 98(2):131–133. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000738>.