

Detección rápida de las tres especies de begomovirus que infectan tomate en Panamá mediante amplificación isotérmica mediada por bucle

José A Herrera-Vásquez^{1*}, Andrés V. Puchades², Laura Elvira González², José N. Jaén-Sanjur³, Caterina Carpino^{2,4}, Luis Rubio², Luis Galipienso^{2,5}

1. Grupo de Investigación de Protección Vegetal (GIPV), Centro de Investigación Agropecuaria Central (CIAC), Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP), Ciudad de Panamá, Panamá.
 2. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Valencia, España.
 3. Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología (FCNET), Universidad de Panamá (UP), Transistmica, Panamá.
 4. Department of Agricultural and Forestry Science, University of Palermo, Palermo, Italy.
 5. Departamento de Biotecnología, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural, Universidad Politécnica de Valencia (UPV), Valencia, España.
- * **Autor de correspondencia:**
joshervs11@gmail.com

Palabras clave:

Begomovirus, lamp, Panamá, *Solanum lycopersicum*.

Resumen

Introducción: los begomovirus (género *Begomovirus*, familia *Geminiviridae*) se transmiten de forma persistente por moscas blancas del complejo *Bemisia tabaci Gennadius*. Este grupo de virus posee un genoma de ADN circular ambi-sentido de cadena sencilla (ssADN), compuesto de uno o dos componentes genómicos, denominados ADN-A y ADN-B (2.6 kb – 2.7 kb). La cadena de sentido viral del ADN-A codifica la proteína de cubierta (CP) y la proteína de movimiento (MP), mientras que la cadena complementaria codifica la proteína asociada con la replicación (Rep), una proteína activadora de la transcripción (TrAP), una proteína potenciadora de la replicación (REn) y la proteína C4, la cual está implicada en el control del ciclo celular del hospedante. La cadena de sentido viral del ADN-B codifica una proteína lanzadera nuclear (NSP), mientras que la cadena complementaria codifica una proteína de movimiento (MP). En Panamá se reportó la presencia de tres especies de begomovirus bipartitos: virus del mosaico amarillo de la papa de Panamá (PYMPV), virus del enrollamiento de la hoja del tomate de Sinaloa (ToLCSiV), y virus del moteado amarillo del tomate (TYMoV), infectando tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en diferentes regiones de este país. Las plantas infectadas con estos virus mostraron síntomas de retraso del crecimiento, amarillamiento, enrollamiento, distorsión de las hojas, y reducción del tamaño de los frutos, lo que trajo como consecuencia una pérdida significativa en la producción. Por tanto, la detección de begomovirus debe ser un proceso permanente, dado que los nuevos patógenos requieren cambios continuos en las estrategias de manejo. **Objetivo general:** desarrollar un método de detección rápido, específico y sensible que permita determinar la incidencia y el daño que ocasionan PYMPV, ToLCSiV y TYMoV al cultivo de tomate en Panamá, como estrategia de control viral. **Metodología:** se desarrolló un método de amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) para detectar PYMPV, ToLCSiV y TYMoV a partir de extractos de ADN total obtenidos de plantas de tomate infectadas, usando tres pares de iniciadores específicos para cada una de estas especies virales. Los productos de amplificación se visualizaron al ultravioleta tras su separación electroforética en geles de agarosa o por tinción directa de ADN en el tubo. Además, se realizó LAMP a partir de extractos de ADN embebidos en papel Whatman 3MM, los cuales se almacenaron previamente durante varios días. **Resultados:** la sensibilidad de LAMP fue similar a la de la PCR convencional. Las tres especies de begomovirus se detectaron con éxito mediante LAMP, a partir de extractos de ADN total obtenidos de

plantas de tomate de campo infectadas. Se detectó y discriminó la presencia de cada virus en infecciones simples y mixtas. Además, este método fue útil para detectar las tres especies de begomovirus, a partir de extractos de ADN obtenidos de plantas de tomate infectadas, los cuales se embebieron en papel Whatman 3MM y se almacenaron previamente durante varios días. Por tanto, este método podría facilitar el procesamiento de un gran número de muestras y el movimiento de material conteniendo ADN entre diferentes laboratorios. **Conclusiones:** los resultados de este trabajo muestran que el método LAMP es un procedimiento específico, rápido y barato para detectar las tres especies de begomovirus (PYPV, TYMoV y ToLCSiV) que infectan tomate en Panamá. Por tanto, se podría utilizar en prospecciones de campo y en programas de saneamiento, con la finalidad de establecer estrategias de manejo.