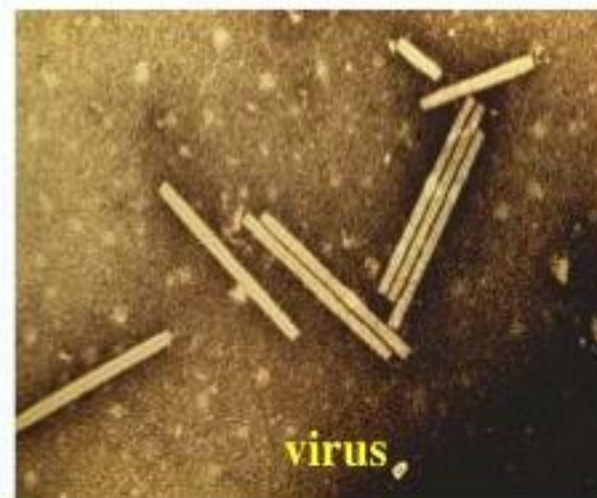
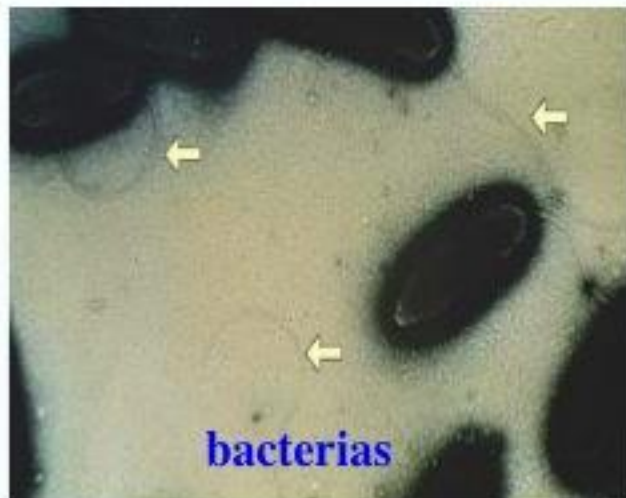
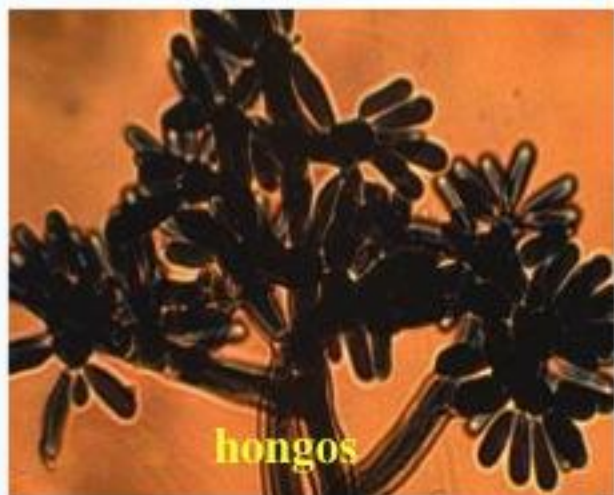


Detección de Fitopatógenos por Biología Molecular



Dr. JUAN CARLOS NOA CARRAZANA.
CorreoE: jnoa@uv.mx

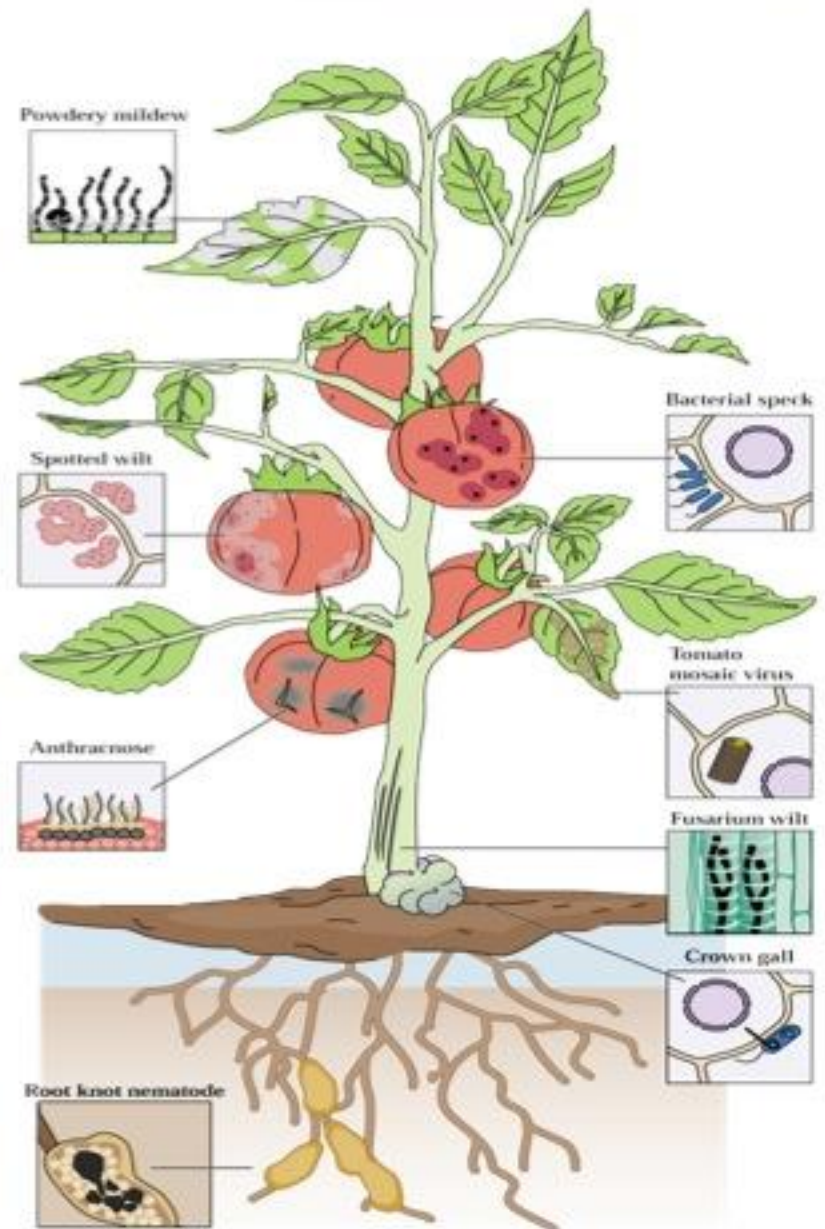
Plagas de las Plantas



Fitopatología: Oportunidades para la Biología Molecular.

Enfermedad: incidencia, etiología, síntomas, **diagnóstico**, patogénesis y epidemiología

Patógeno: **sistemática**, biología, **supervivencia y variabilidad genética**.



“Los virus.....
son los virus”

André Lwoff, Premio Nobel Medicina, 1965.

Virus fitopatógenos

4 tipos de acuerdo al génoma.

ssDNA, dsDNA, ssRNA, sdRNA

85% de los virus fitopatógenos tienen
un génoma de ssRNA

Síntomas visibles en la planta

Aislamiento
o GnR25



Interacción
Papa-PVY

Interacción
Frijol-BCMV



SINTOMAS DEL PRSV EN TALLO

PAPAYA CERA



Síntomas de BCMV visibles en frutos

En frutos se observan
Mosaicos
Deformaciones
Manchas
amarillamientos



Interacción
Frijol-BCMV

Aislamiento
o GnR25

Síntomas de PRSV visibles en frutos



PAPAYA MARADOL



PAPAYA CERA

Necrosis

Lesiones locales



Tabaco-Tev

Sistémica



Frijol-BCMNV

SIGNOS VIRALES EN PLATANOS DE SOMBRA

cv. "Morado"



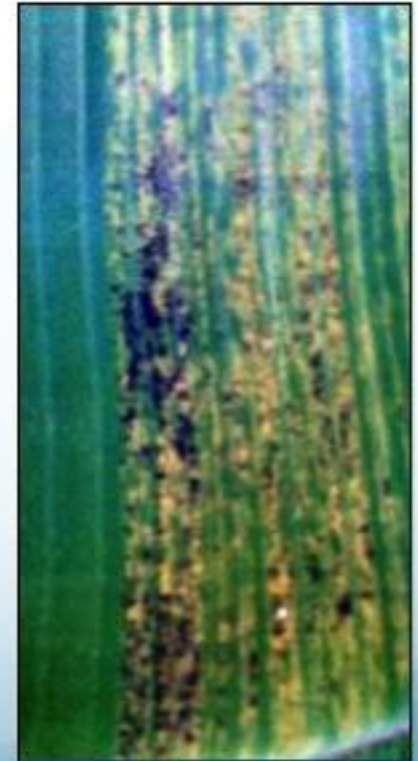
SINTOMAS VIRALES EN PLÁTANOS DE SOMBRA



Xico, Ver.



Chocaman, Ver.



Coatepec, Ver.

Detección

La detección de los virus en plantas es difícil, e igualmente su control. Se tienen distintos métodos que se basan en la serología y el análisis de PCR.

Serología

- ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay



enzime



Adaptado de

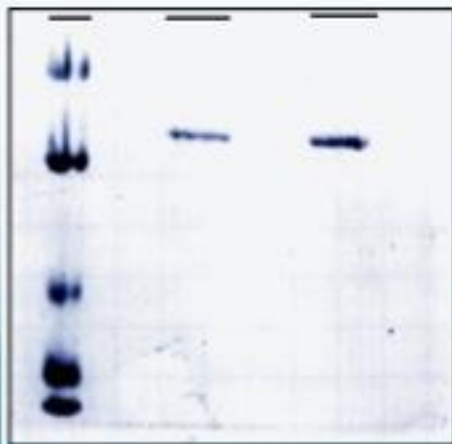
PURIFICACIÓN



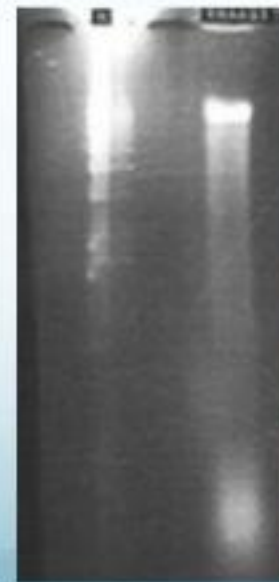
Planta infectada



Gradiente de Sales de cesio

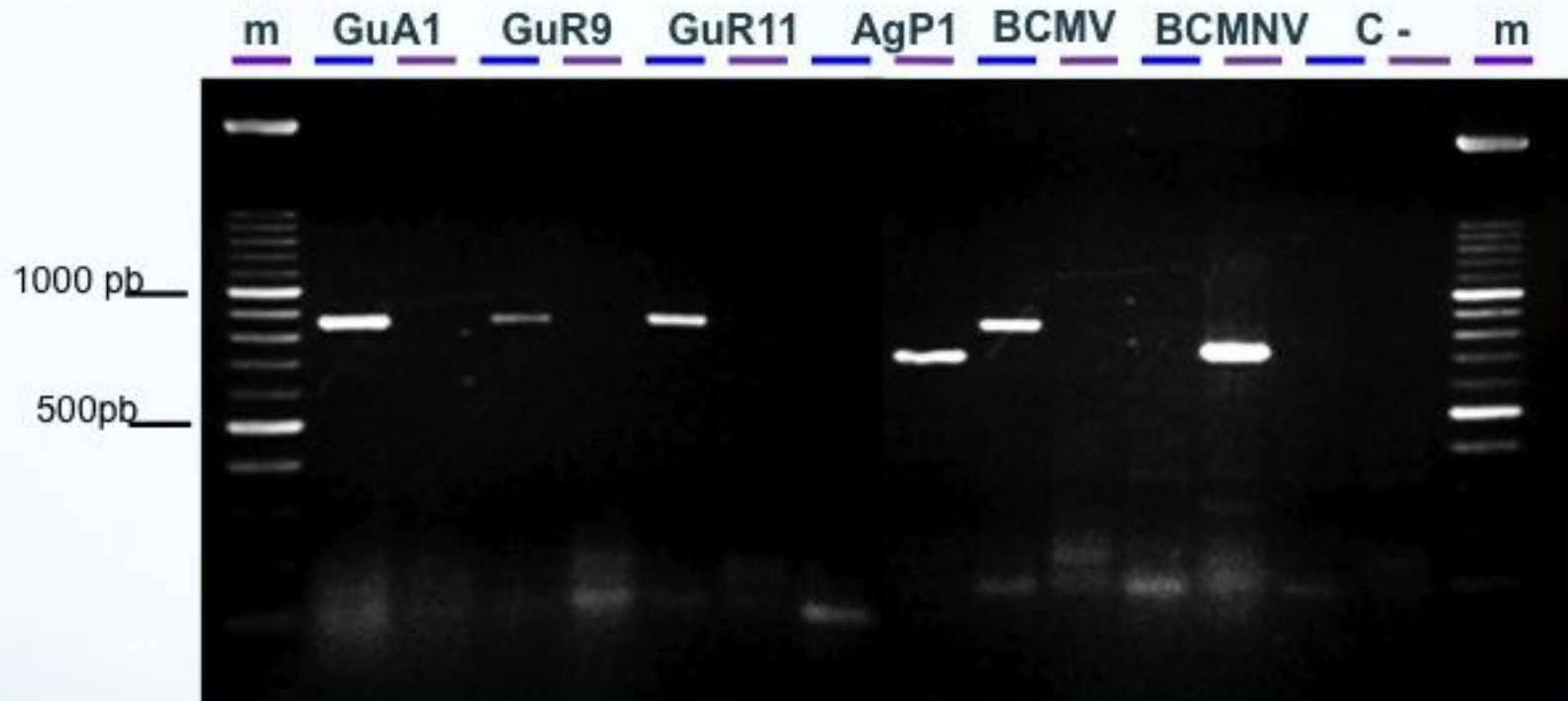


SDS PAGE



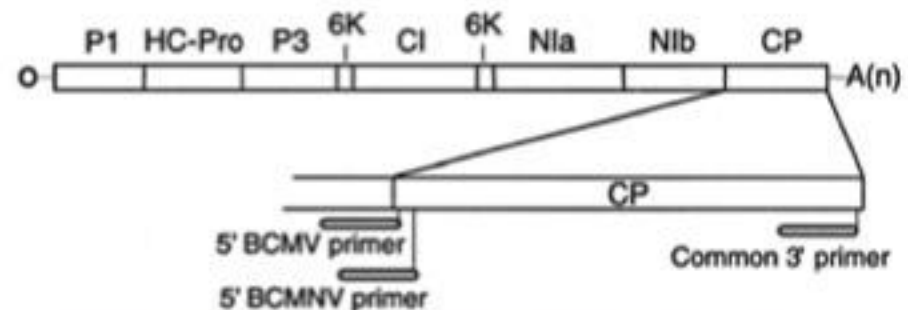
RNA genómico

DISTRIBUCIÓN DEL BCMV Y BCMNV EN MÉXICO



OLIGOS USADOS

- Diferencial para mosaico común
- Diferencial para mosaico necrotico



(Flores-Estévez, N y col. 2003. Plant Dis. 87:21-25)

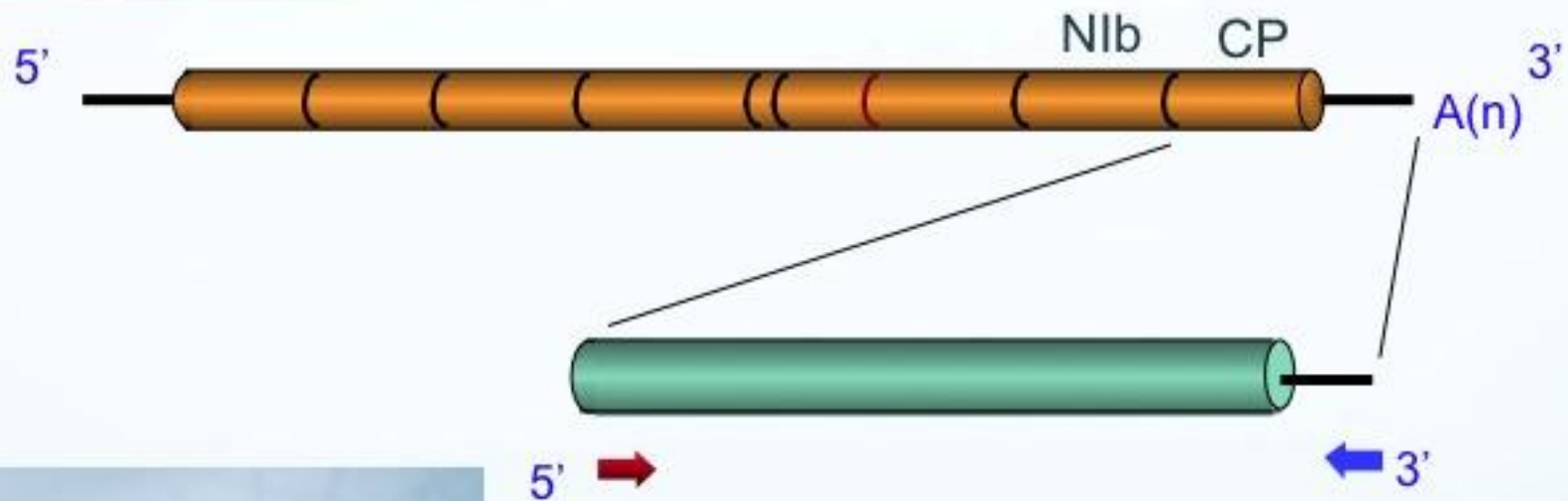
DISTRIBUCIÓN DEL BCMV Y BCMNV EN MÉXICO



(Flores-Estévez, N y col. 2003. Plant Dis. 87:21-25)

DIAGNOSTICO DE PRSV

RT-PCR CP-PRSV



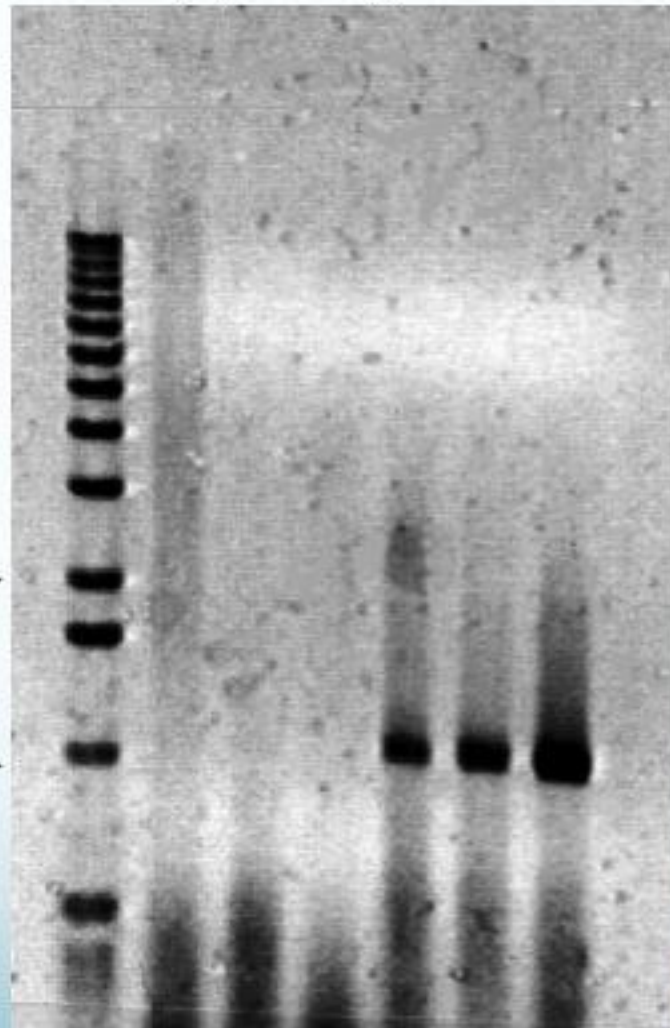
DETECCION DE PRSV EN PLANTAS DE PAPAYA

M (-) S Fp Fc T H

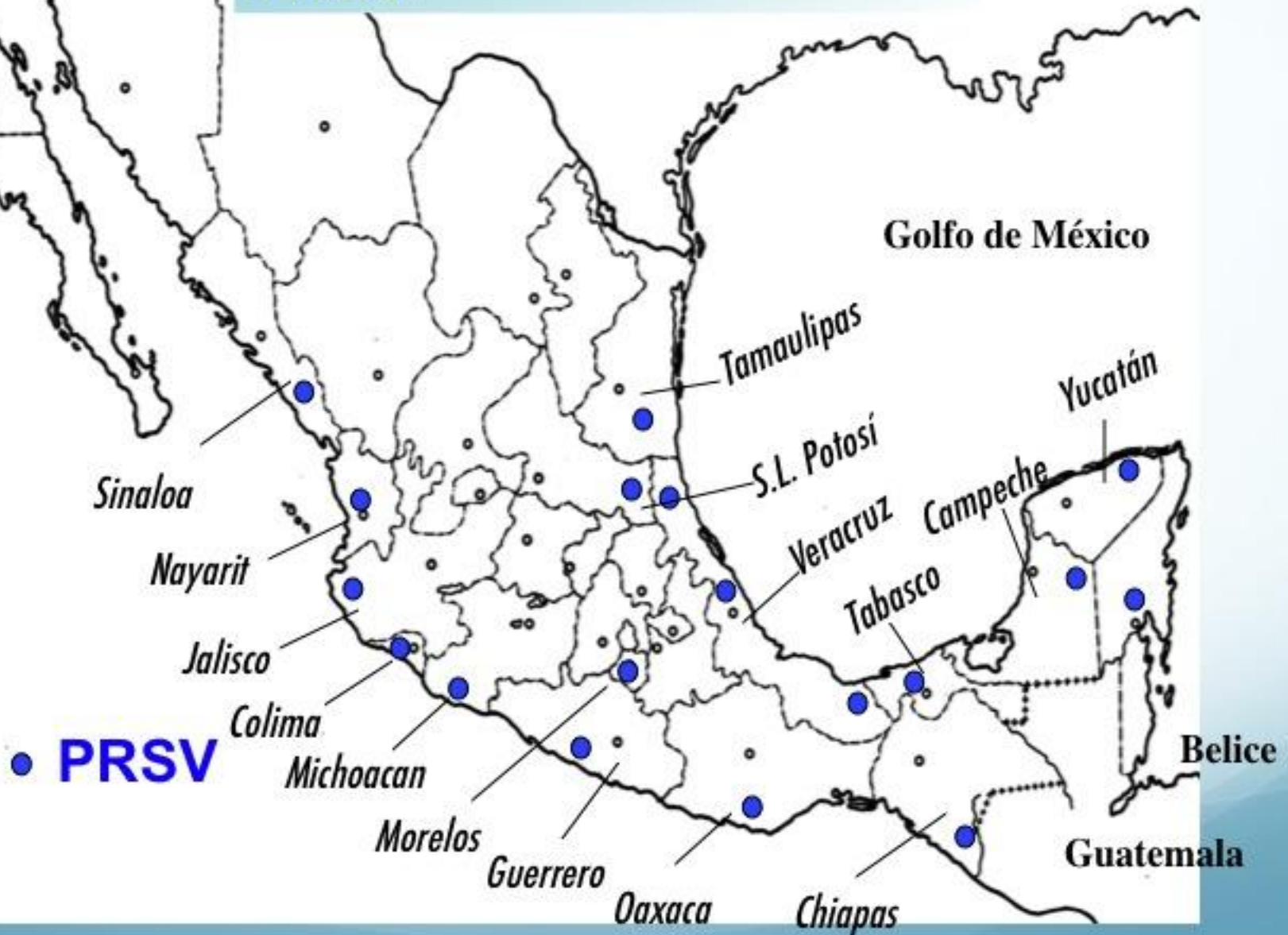
Oligonucleotidos
Específicos para
la Cp

2000pb →

1000pb →

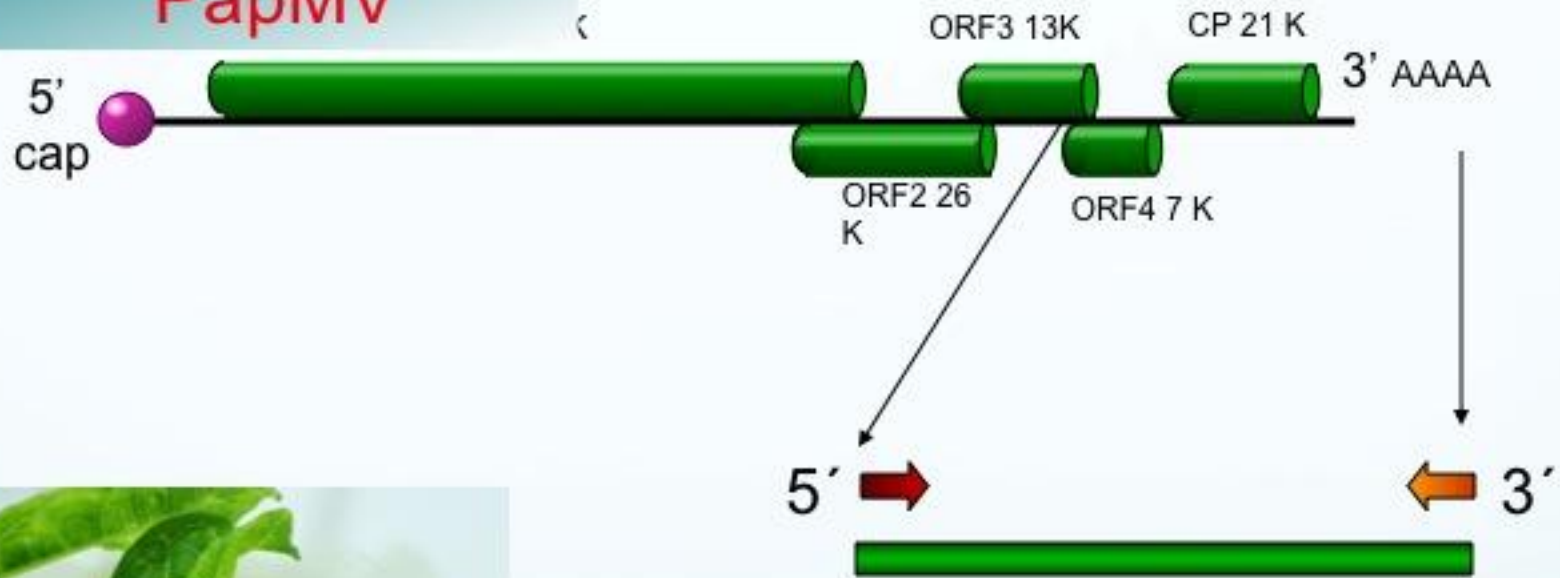


DISTRIBUCION DEL PRSV.

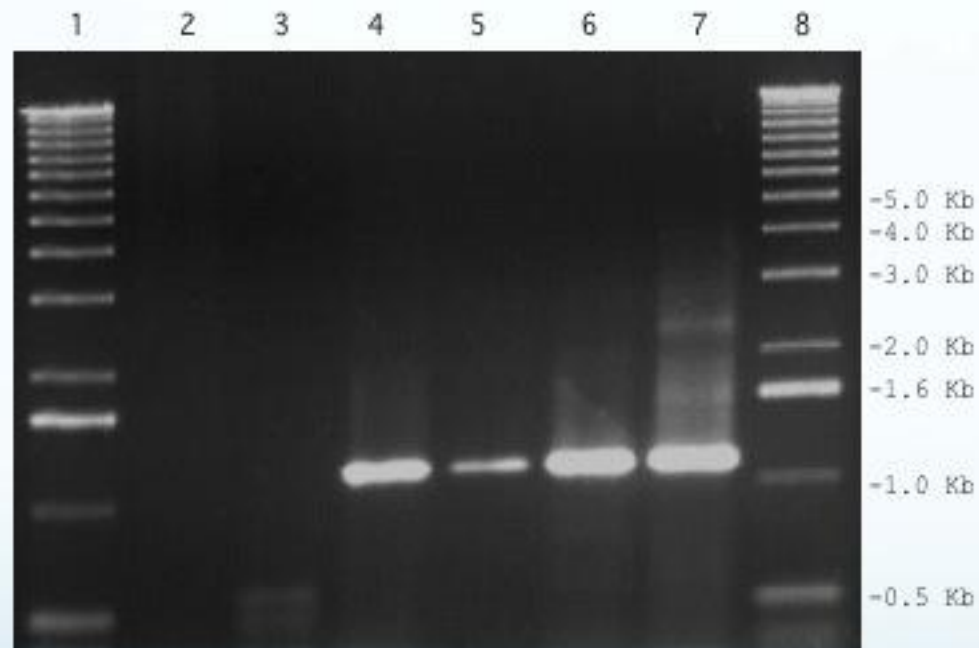


DIAGNOSTICO DE PapMV

RT-PCR CP-
PapMV



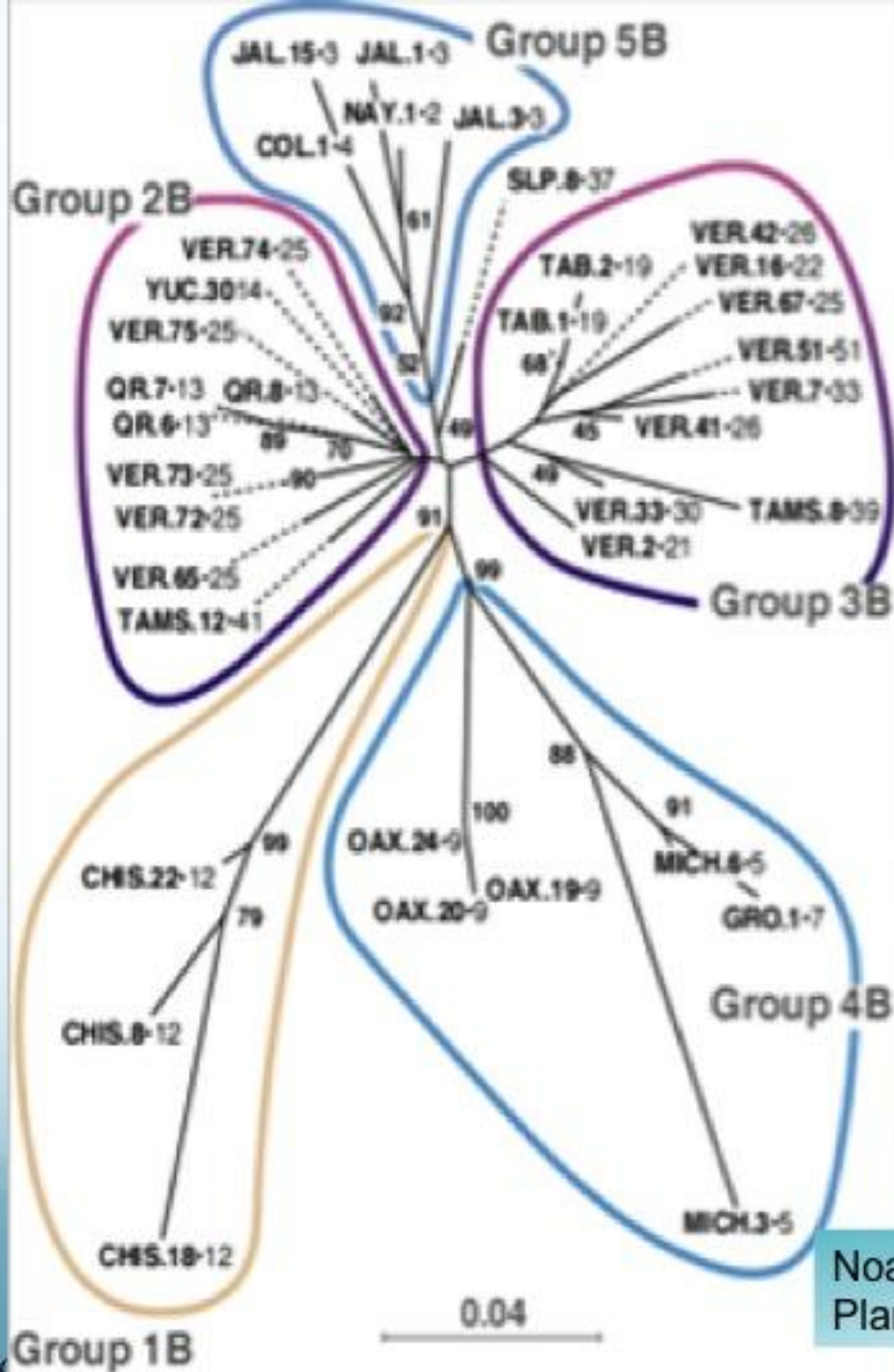
DETECCION DE **PapMV** EN MEXICO



Noa-Carrazana & Silva-Rosales, L.
Plant Dis. (2001) 85 (5): 558



VARIANTES VIRALES DE PRSV MEXI



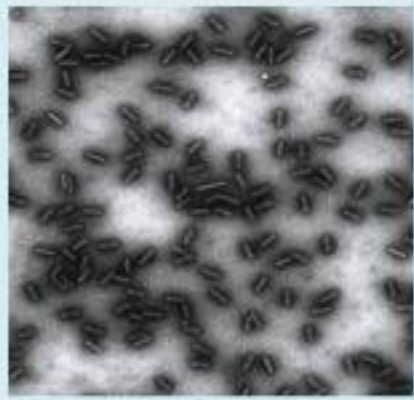
Noa-Carrazana et al.
Plant Dis. (2006) 90(8):1004-1011

DISTRIBUCION DE PRSV y PapMV EN MEXICO.



VIRUS DEL RAYADO DEL BANANO (BSV)

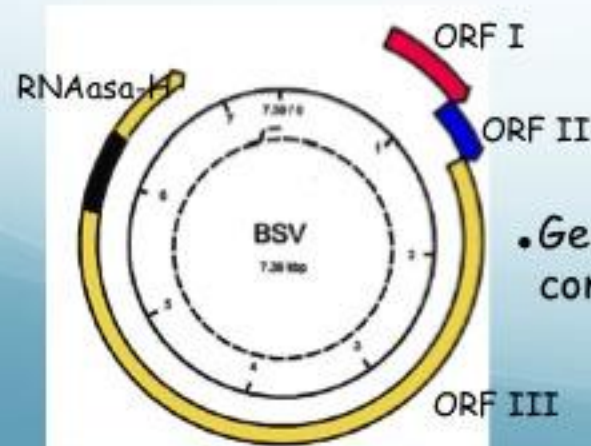
- Género Badnavirus
- Familia Caulimoviridae



- Virus no envuelto
- Nucleocapside en forma de bacilo
- Dimensiones 119 nm largo/30 nm de diámetro



- Hospederos: Musa ssp.
- Sintomas: rayados, clorosis, necrosis de hojas
- Transmitidos por coccidos



- Genoma de ADM de doble cadena (7.4 Kb) con repetidos terminales directos

MAPA DE COLOMBIA



Quindío

1. Calarcá
2. Quimbaya
3. Montenegro

Caldas

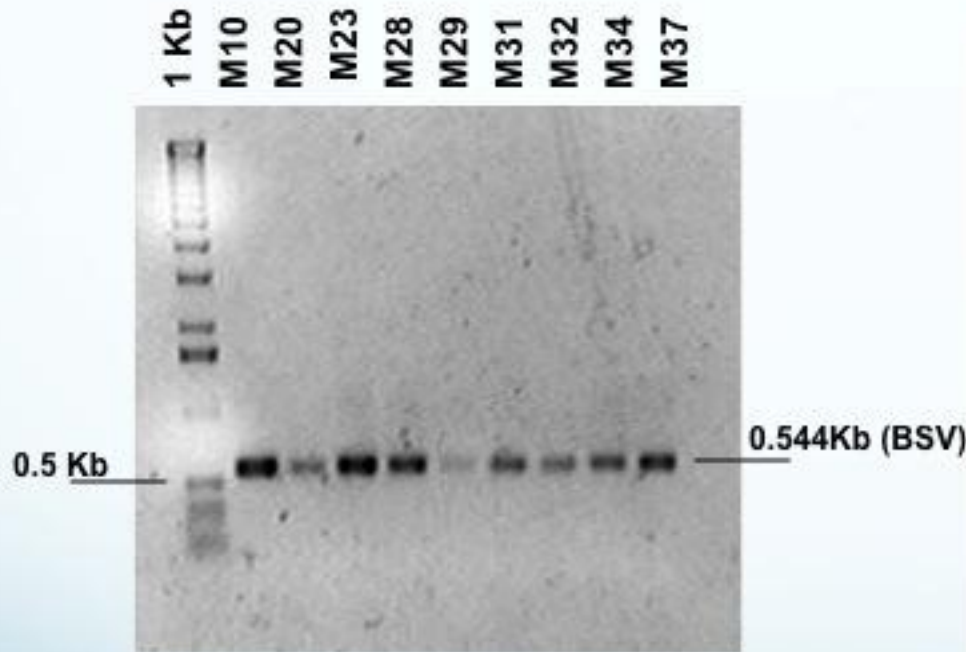
1. Manizales
2. Chinchiná

Alturas entre
1170-1440 msn

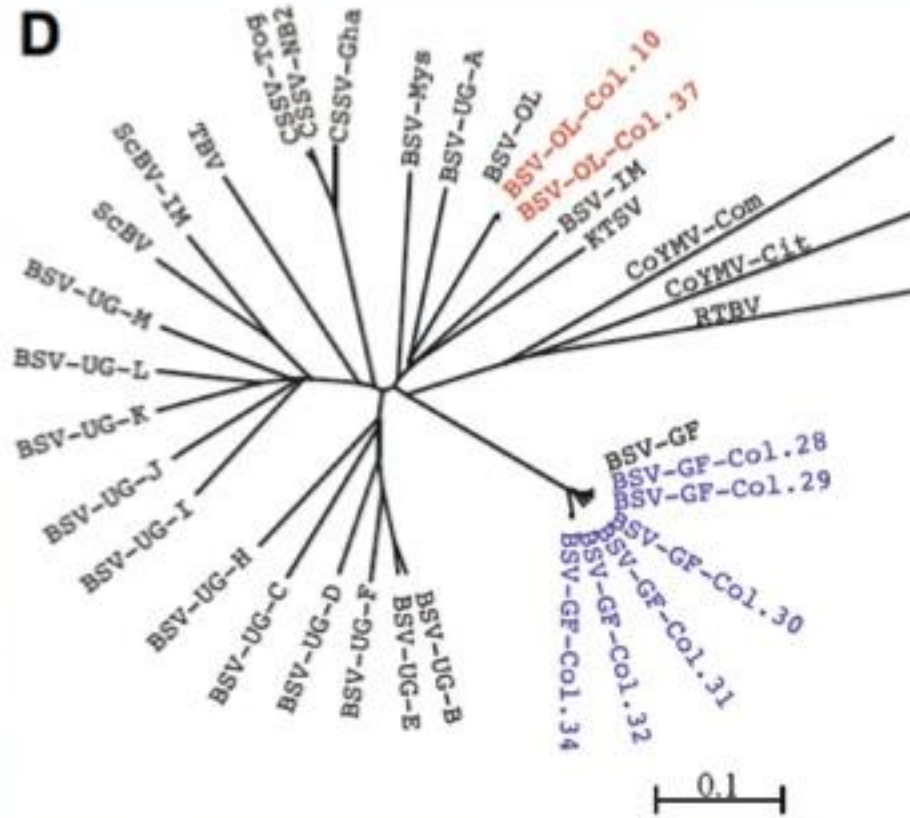
RESULTADO DEL DIAGNOSTICO DE **BSV** EN COLOMBIA

	Analizadas	Positivas
Muestras	37	11
Fincas	7	6
Veredas	7	6
Municipios	5	5
Departamentos	2	2
Variedades	11	6
Genomas	5	3
Alturas	7	6
Temperaturas	5	5

PURIFICACION DE LAS BANDAS DE **BSV** AMPLIFICADAS POR IC-PCR



Nota: Carga de 2 µl por pocillos



CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE UN AISLADO SEVERO DEL VIRUS DE LA MANCHA ANULAR DE LA PAPAYA DE ORIGEN MEXICANO

**Virus Genes
(2007)
35:109-117**



Noa Carrazana JC, González de León Ibáñez D, Silva Rosales L.

LABIOTECA, UV; CINVESTAV Irapuato.

PRSV-VrPO Severidad de síntomas

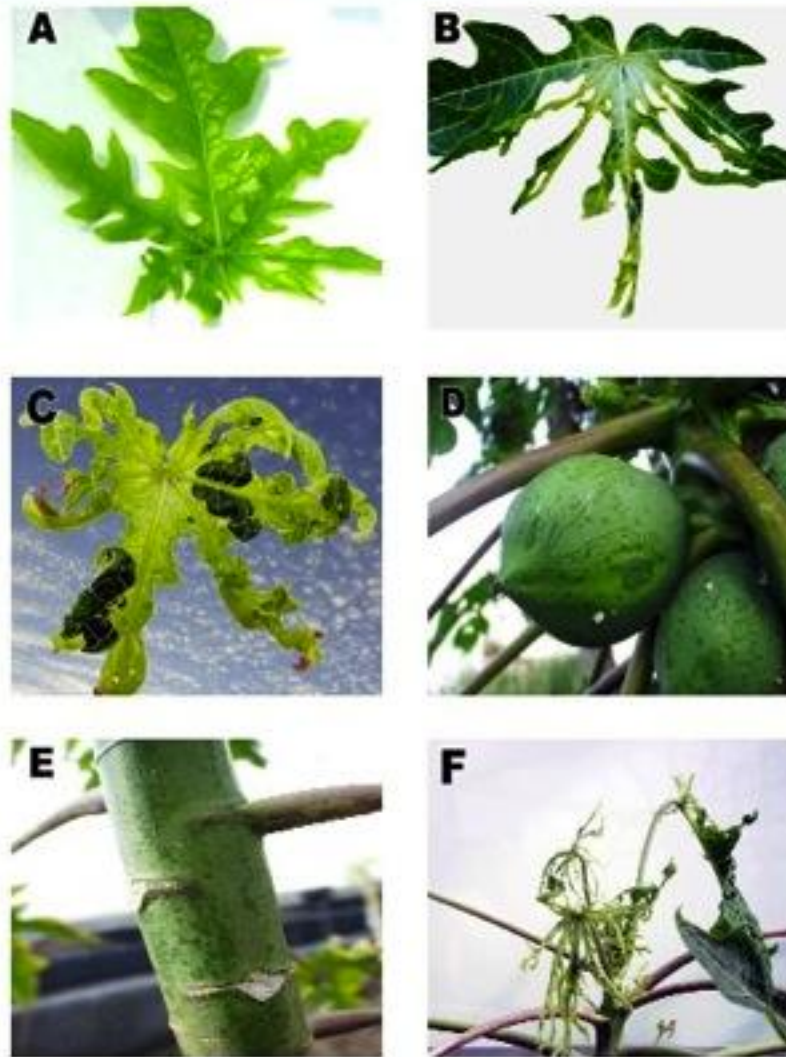


Figure 2. Síntomas virales de PRSV en plantas de papaya: A, sana; B y C, deformación de las hojas "filiformidad"; D, manchas anulares en los frutos; E, manchas aceitosas en tallos; F, deformación del ápice.

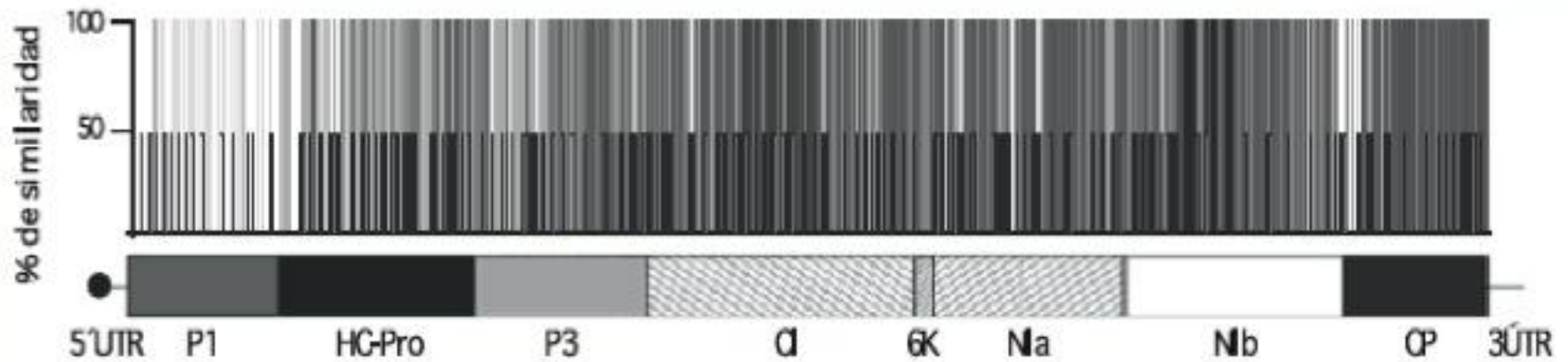
AMPLIFICACIÓN DEL GENOMA PRSV-VrPO

GENOMA



Primer no.	Orientation	Nucleotide sequence	Position in genome	Amplified fragment no.	Fragment length (nt)
12	Forward	AAATAAAACATCTCAACACAACATAATCAAAG	1	1	1780
50	Reverse	GCCGTAGAAAAGCCCCTATTAACC	1780		
27	Forward	GAAGAAGCATGGACAATACAGATTGGGG	708	2	1595
28	Reverse	GGGTTGAAGTGAGCTTTCCAGAACGCT	2303		
49	Forward	AGAGTAATTGACGAAGTTGGTGAGGA	1917	3	1650
51	Reverse	GCGTAGGTTTTTCCACAGC	3567		
52	Forward	GCAGTTGACGGATGAAGGTCTACTCA	3482	4	1149
53	Reverse	GAGGTCTGGTGGGCTCTATT	4631		
54	Forward	GTCTTTAGATGACATTCGGGATTTCTAT	4279	5	2026
118	Reverse	GTGAAACCGCATAACAATCGCATCCT	6305		
26	Forward	CATTTTAAAGCCATGACAAGTTGCACTGG	5972	6	1570
55	Reverse	GCTCCAGTGTITGCTCCAAGTTAAAT	7542		
56	Forward	GATTGATGATTTAACTTGGA	7508	7	1881
59	Reverse	GACACATCATTTCCGTCCTB	9389		
3	Forward	GACCATGGTCTAGAAATGAAGCTGTGGATG	9249	8	1071
11	Reverse	TTTTTTTTCTCTCATTCTAAGAGGCTC	10320		

ANALISIS MOLECULAR DEL Mex-VrPO del PRSV



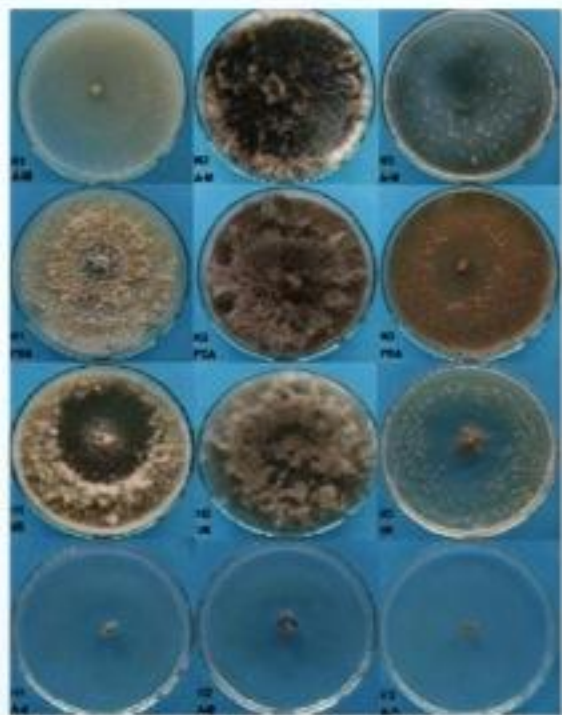
No. Acc. Banco de genes NCBI AY231130

Aislamiento severo de
PRSV (Mex-VrPO)



(Noa-Carrazana y col 2007. *Virus Genes*. 35:109-117)

Identificación del hongo agente causal de la necrosis foliar en chirimiyo (*Annona cherimola* Mill.) a través de técnicas moleculares.



Phomopsis

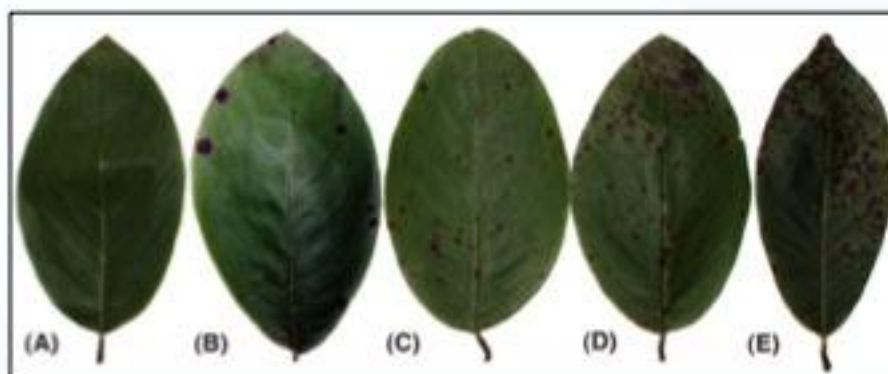
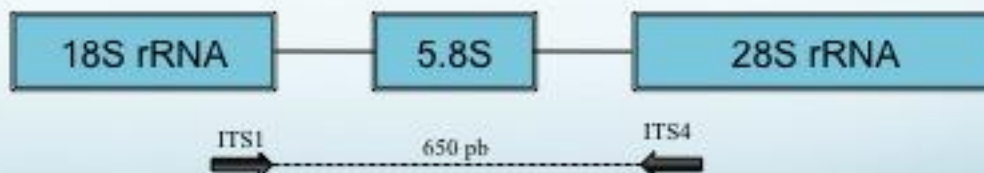


Figura. Incidencia de porcentaje de infección.



Detection of Phytoplasma on Indian Fig (*Opuntia ficus-indica* Mill) in Mexico Central Region.

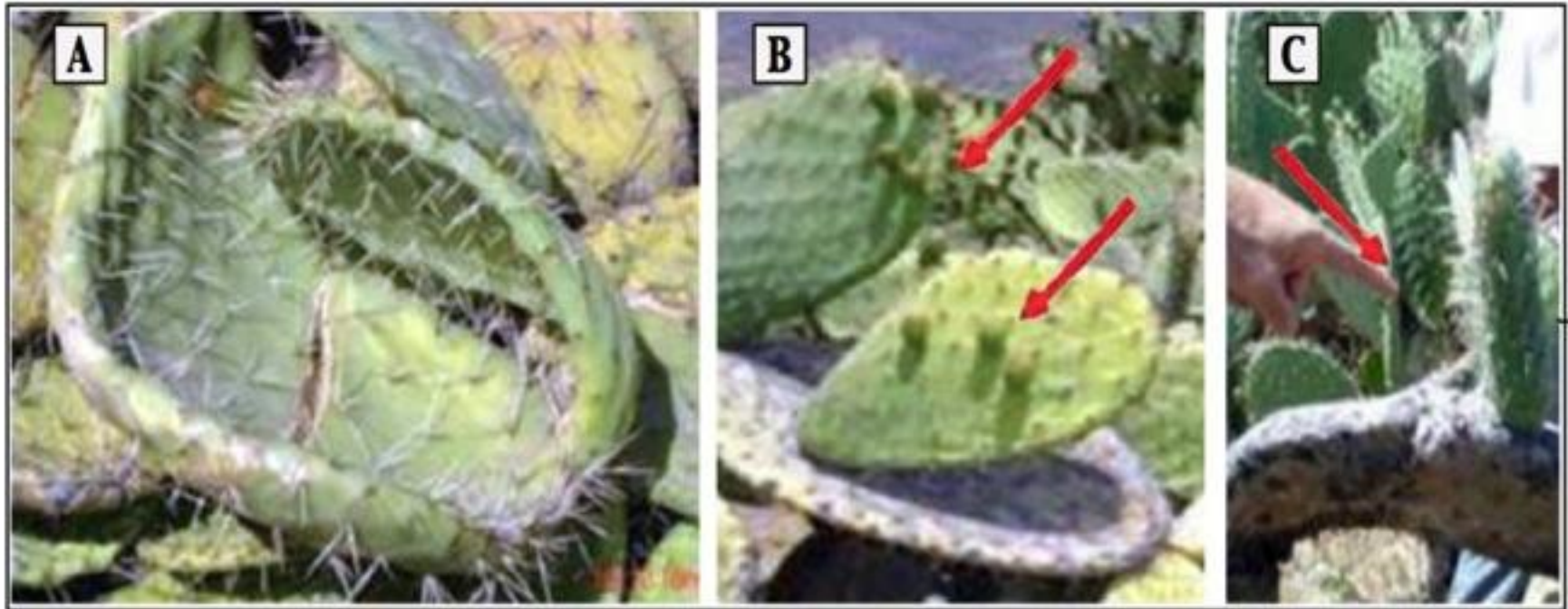
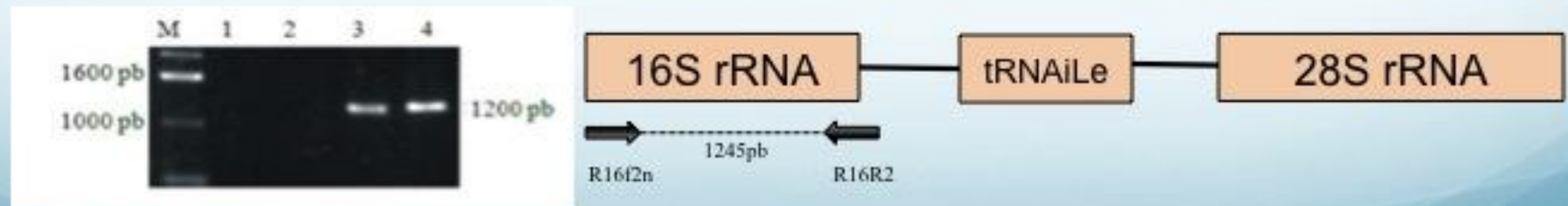
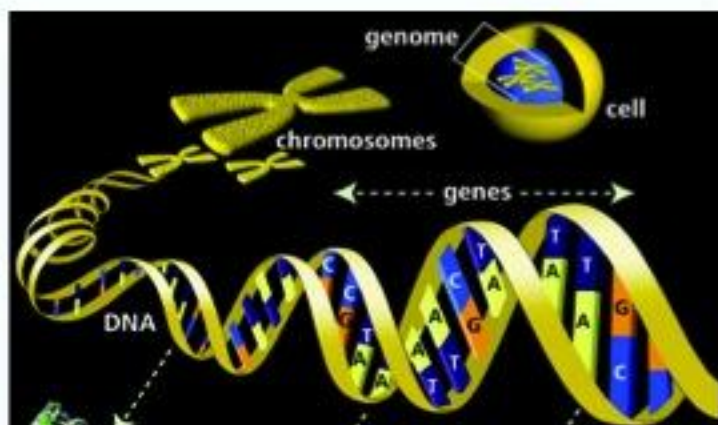


Figure 1. Symptoms found in field were yellowing in old plantations, cladode deforming, may appear yellow and thickened without losing their typical ear like shape (A) or, alternatively produce heart shaped cladodes, cladodes displayed atypical proliferation buds (B), and fingers former cladodes (C).



Hernández-Pérez, R., Noa-Carrizana, JC., Gaspar, R., Mata, P., and Flores-Estévez, N.. *OnLine Journal of Biological Sciences* 9 (3): 62-66, 2009



Colaboradores:

Dra. Norma Flores Estévez
Dra. Lourdes Iglesias Andreu
Dr. Antonio Andrade Torres
Dr. Librado Vidal Hernández
Dr. Ricardo Hernández Pérez
Dra. Laura Silva Rosales
Ing. Oliva Nabor Romero
Ing. Nayali Vidal Martínez
Lic. Fabiola López Ramírez



Dr. JUAN CARLOS NOA CARRAZANA.
CorreoE: jnoa@uv.mx