

Epidemiology and molecular characterization of the main aphid-borne virus infections in cucurbits: Effect of mixed infections on the genetic diversity of viral populations

Epidemiología y caracterización molecular de las principales virosis transmitidas por pulgón en cucurbitáceas: Efecto de las infecciones mixtas en la diversidad genética de las poblaciones virales

M.P. Rabadán^{1*}, P. Gómez¹, M. Juárez²

¹Departamento de Biología del Estrés y Patología Vegetal, CEBAS-CSIC, Campus Universitario de Espinardo, 30100 Murcia. Spain.

²Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Universidad Miguel Hernández de Elche, Orihuela, Alicante. Spain.

*mprabadan@cebas.csic.es

Abstract

The production of cucurbit crops (melon, watermelon, zucchini, squash and cucumber) is continually facing new pests and pathogen diseases of viral etiology. Concurrently, it has been observed a negative impact on the production of these crops, potentially associated with the rise of the organic crop production and aphid-borne viruses that appear to be overlapping at temporal and spatial scales. However, the epidemiological status of aphid-borne viruses affecting cucurbit crops, and the extent in which mixed infections may affect the evolutionary dynamics of viral populations remains unclear. This research work proposes two complementary (descriptive and exploratory) methodological approaches to study and expand our knowledge on the molecular epidemiology and eco-evolutionary dynamics of these viral diseases in cucurbit crops.

Keywords: crops; eco-evolutionary dynamics; plant viral disease; pathology.

Resumen

La producción de cultivos de cucurbitáceas (melón, sandía, calabacín, calabaza y pepino), se enfrenta constantemente a nuevas plagas y enfermedades de etiología viral. En los últimos años, y coincidiendo con el auge de estos cultivos en ecológico, se ha observado un impacto negativo en la producción de estos cultivos, potencialmente asociados a virus transmitidos por pulgón, que aparecen superponerse a escalas espacio-temporales. Sin embargo, la situación epidemiológica de las virosis transmitidas por pulgón afectando los cultivos de cucurbitáceas, y el impacto que pueden tener las infecciones mixtas en las dinámicas evolutivas de las poblaciones virales y la epidemiología de la enfermedad sigue sin estar clara. Este trabajo de investigación plantea dos aproximaciones metodológicas complementarias (una descriptiva y otra exploratoria) para estudiar y ampliar nuestro conocimiento sobre la epidemiología molecular y dinámica eco-evolutiva de estas enfermedades virales en cultivos de cucurbitáceas.

Palabras clave: cultivo; dinámica eco-evolutiva; enfermedades virales de plantas; patología.

1. INTRODUCCION

La horticultura intensiva genera una gran actividad económica en nuestro país. Entre las hortalizas más importantes destacan las que pertenecen a la familia de las Cucurbitáceas (melón, calabacín, sandía, pepino y calabaza) tanto por la superficie dedicada a su cultivo como por el valor económico de su producción. Por ejemplo, España registra unas 23.000 ha dedicadas al cultivo de melón con una producción de 750.600 t. Sin embargo, y pese a su importancia agronómica y económica, hay un escaso conocimiento sobre la epidemiología de las enfermedades que afectan a estos cultivos. Entre los patógenos que afectan a las cucurbitáceas, se han identificado numerosos virus (al menos 60), y entorno a una docena son transmitidos por pulgón y mosca blanca (1–3). Entre estos virus destacan el virus del amarilleo de las cucurbitáceas transmitido por pulgones (Cucurbit aphid-borne yellows virus, CABYV) y el virus del mosaico de la sandía (Watermelon mosaic virus, WMV). Estos virus han sido identificados tanto en infección simple como en infección mixta de forma mayoritaria en los campos de cultivo del sudeste español (4–6). Tanto CABYV como WMV presentan un cierto grado de polifagia entre otras especies cultivadas y flora arvense. Además, están ligados a un mismo tipo de transmisión vectorial por pulgones, los cuales en algunos casos se comportan como plagas habituales en los cultivos. Durante los últimos años, los estudios epidemiológicos realizados por el grupo de Patología Vegetal (CEBAS) indican que cultivos de cucurbitáceas muestran una elevada frecuencia de plantas sintomáticas asociadas a virus. Esto puede ser debido al incremento de cultivos en sistemas de producción ecológico, y subraya la necesidad de identificar qué virus afectan a estos cultivos, y el alcance que pueden tener las infecciones mixtas en las dinámicas eco-evolutivas de las poblaciones virales en estos cultivos.

2. OBJETIVOS

Este proyecto de tesis doctoral pretende (i) continuar con los estudios epidemiológicos de virosis en cultivos de cucurbitáceas, (ii) ampliar nuestro conocimiento sobre la estructura genética de las poblaciones virales que afectan a estos cultivos, (iii) evaluar el impacto de las infecciones mixtas en las dinámicas eco-evolutivas de las poblaciones virales, y (iv) conocer los mecanismos moleculares asociados con la transmisión de virus por pulgones, con la finalidad de ayudar al desarrollo de estrategias que sean eficientes en la prevención y el control de enfermedades virales.

Los objetivos específicos son:

Objetivo 1. Estudiar la distribución y estructura genética de las poblaciones de virus transmitidas por pulgones en las muestras de melón, calabacín, sandía, calabaza y pepino procedentes de tres comarcas productoras del sureste de España (Campo de Cartagena, Vega Alta y Media del Segura, y, Alicante y Vega Baja del Segura).

Objetivo 2. Evaluar el impacto de las infecciones mixtas virales y condiciones abióticas como la temperatura en las dinámicas poblacionales y evolutivas del virus, examinando acumulación viral y variabilidad genética de las poblaciones virales.

Objetivo 3. Examinar el efecto de las infecciones mixtas virales y condiciones abióticas como la temperatura en la relación virus-vector en melón y calabacín, analizando la tasa de transmisión y el comportamiento del vector, además de la expresión diferencial de genes del vector implicados en la transmisión.

Objetivo 4. Localizar CABYV y WMV a nivel celular en el vector y determinar cómo proteínas virales y del vector influyen recíprocamente en la transmisión de cada virus. Conocer cómo las infecciones mixtas pueden influir en la transmisión de virus no-relacionados. Estudio de

localización de CABYV y WMV dentro del vector y corroborar las interacciones de ambos virus con proteínas del vector.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Hasta la fecha se ha conseguido analizar una colección de muestras sintomáticas de diferentes especies de plantas cultivadas que comprendía desde 2011 hasta 2019. Los resultados muestran que las dos especies de virus mayoritarias en los cultivos de melón y calabacín de la Región de Murcia son CABYV y WMV (Fig. 1). Asimismo, CABYV y WMV fueron detectados simultáneamente en una gran proporción de muestras, revelando la elevada cantidad de infecciones mixtas que hay entre ellos y con otros virus presentes en el campo de manera minoritaria. Teniendo en cuenta estos resultados preliminares, y sabiendo que, CABYV y WMV, son los virus mayoritarios en nuestras zonas de cultivo, los siguientes objetivos se centrarán en el estudio de ambos virus tanto en infección simple como en infección mixta, en cultivos de melón y calabacín, dos de los cultivos más extensos en las zonas productoras.

A continuación, se está llevando a cabo una selección de aislados de CABYV y WMV procedentes de cada año muestreado y ambos cultivos para realizar una caracterización genética de sus genomas completos. Hasta el momento se han secuenciado dos aislados de CABYV, donde hemos podido comprobar filogenéticamente que están dentro de los aislados españoles, y son similares genéticamente entre ellos y con el resto de aislados españoles.

Posteriormente, se examinará cómo las infecciones mixtas afectan a la dinámica evolutiva de los virus. Para ello, se realizarán dos clones infectivos de CABYV y WMV para realizar inoculaciones de grupos de plantas con las diferentes combinaciones en infecciones simples y mixtas. Se examinará la acumulación viral en cada especie de planta cultivada y se realizará secuenciación de los genomas completos por secuenciación masiva. Además, se estudiarán cómo las condiciones abióticas (Temperatura de crecimiento de las plantas) puede afectar a la acumulación viral y a las interacciones virus-virus dentro de la misma planta.

Por otro lado, teniendo en cuenta que los virus se transmiten mediante diferentes métodos de transmisión, y recientemente se ha planteado la posibilidad de que los virus pueden modificar rutas bioquímicas de los vectores, plantaremos el estudio del efecto de las interacciones simples o mixtas, CABYV y WMV, así como la temperatura, para saber el efecto que tienen en los genes del vector mediante transcriptómica.

Finalmente, se estudiará qué proteínas del vector están involucradas en la transmisión de CABYV y WMV. Y también, conocer el efecto de la infección mixta de virus no relacionados en la transmisión.

4. CONCLUSIONES

CABYV y WMV son los virus predominantes en los cultivos de cucurbitáceas del sudeste peninsular.

5. AGRADECIMIENTOS

Proyecto estatal I+D+i: Epidemiología y caracterización de las virosis transmitidas por pulgón en cucurbitáceas (MINECO, AGL2017-89550-R).

6. REFERENCIAS

1. Alonso-Prados JL, Aranda MA, Malpica JM, García-Arenal F, Fraile A. Satellite RNA of cucumber mosaic cucumovirus spreads epidemically in natural populations of its helper virus. *Phytopathology*. 1998;88(6):520-524. doi:10.1094/PHYTO.1998.88.6.520.
2. Fauquet CM, Fargette D. International Committee on Taxonomy of Viruses and the 3,142 unassigned species. *Virology*. 2005;2:1-10. doi:10.1186/1743-422X-2-64.
3. Lecoq H, Desbiez C. Viruses of Cucurbit Crops in the Mediterranean Region: An Ever-Changing Picture. *Adv Virus Res*. 2012;84:67-126. doi:10.1016/B978-0-12-394314-9.00003-8.
4. Juárez M, Legua P, Mengual CM, et al. Relative incidence, spatial distribution and genetic diversity of cucurbit viruses in eastern Spain. *Ann Appl Biol*. 2013;162(3):362-70. doi:10.1111/aab.12029
5. Kassem M a, Juárez M, Gómez P, et al. Genetic Diversity and Potential Vectors and Reservoirs of Cucurbit aphid-borne yellows virus in Southeastern Spain. *Phytopathology*. 2013;103:1188-97. doi:10.1094/PHYTO-11-12-0280-R.
6. Kassem MA, Sempere RN, Juárez M, Aranda MA, Truniger V. Cucurbit aphid-borne yellows virus is prevalent in field-grown cucurbit crops of southeastern Spain. *Plant Dis*. 2007;91(3):232-8. doi:10.1094/PDIS-91-3-0232.

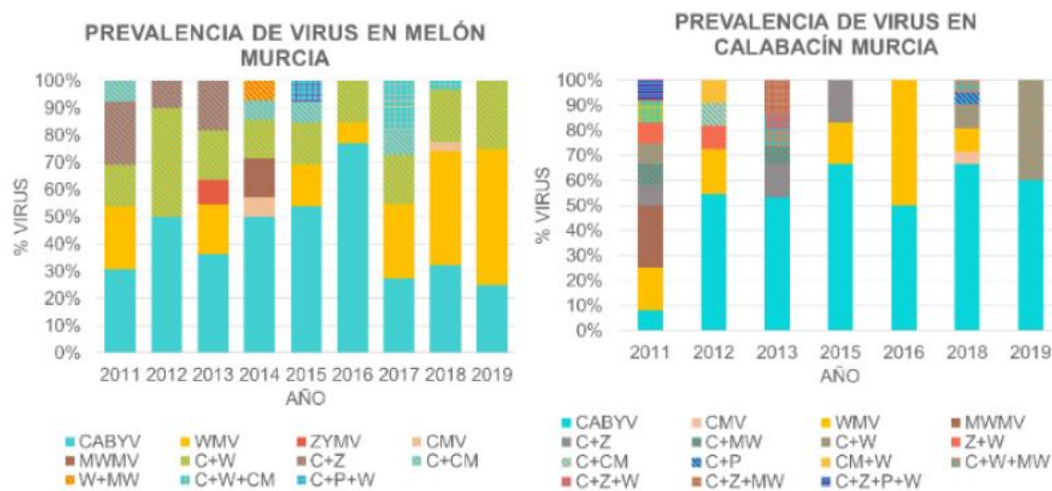


Figura 1. Detección (%) de los diferentes tipos de virosis en cultivos de melón y calabacín de la Región de Murcia desde la campaña de 2011 hasta 2019. La proporción de cada virus/año está representada por el área de cada barra con un color de fondo solido (infecciones simples) y fondo trazado (infecciones mixtas), destacando CABYV (azul) y WMV (amarillo).