

DIAGNOSTICO DEL VIRUS DE LA PUNTA RIZADA DEL VETABEL (BCTV) POR MEDIO DE MARCADORES MOLECULARES

Diseño de primers, amarillamientos, chile seco.

1. DESCRIPCIÓN DE LA TECNOLOGÍA. Por amplificación el BCTV es detectado por PCR usando los primers diseñados de acuerdo a diagnósticos previos de un estudio sobre BCTV. Estos primers son: CP4f (5'-CAG TAT CGA CCA GTT GTT T-3') y BCTV CP6r (5'-CTC TTC GAA TAC GAT AAG TAG-3'), los cuales amplifican una porción del gen de la cubierta proteica. Para la reacción se utilizan 5-10 ng de ADN y 20 µl de una reacción compuesta por 0,250 µM de cada cebador, 3 unidades de Taq DNA polimerasa (Promega, Madison, USA), 250 µM de dNTPs, 2 µl de tampón para Taq 10X (15 mM Cl₂Mg; 100 mM Tris-HCl (pH 9); 500 mM KCl; 1,1% de gelatina) y 3 mM Cl₂Mg. El programa de la PCR es: 35 ciclos consistentes de 94°C por 30 segundos, 59°C por 60 segundos y 72°C por 90 segundos. Y una extensión final de 72°C por 5 minutos. La amplificación de los productos es separada por electroforesis. El diagnóstico de BCTV es determinado por la presencia de un fragmento de 576 pb en geles de agarosa al 2%. El ADN es teñido con bromuro de etidio y visualizado mediante luz ultravioleta.

2. PROBLEMA, OPORTUNIDAD, NECESIDAD ATENDIDO. Los amarillamientos de chile seco constituyen uno de los problemas fitosanitarios más serios para este cultivo en el norte centro de México, donde al final del ciclo alcanza hasta el 70% de daño, ocasionando con ello pérdidas económicas importantes para el estado de Zacatecas siendo éste el principal productor de chile para secado. La sintomatología asociada con esta enfermedad es compleja y puede cambiar según la localidad, tipo de chile, patógenos presentes, densidad de vectores y condiciones ambientales. Estas plantas de chile (*Capsicum annum* L.) toman un color amarillo con aspecto arbustivo, hojas alargadas; sin flores o frutos y usualmente mueren prematuramente; esta sintomatología es causada por el virus de la punta rizada del betabel (BCTV). Esta tecnología permite ahora el diagnóstico confiable de la presencia del virus BCTV, tanto en plantas como en insectos, lo que concede implementar estrategias de manejo en el cultivo del chile para secado, y establecer el control fitosanitario específico para el virus del BCTV.

3. RESULTADOS OBTENIDOS POR LOS PRODUCTORES AL UTILIZAR LA TECNOLOGÍA. La aplicación de la tecnología garantiza un diagnóstico confiable del 98% (contra la del 80% con la antigua técnica por ELISA) de la presencia del virus de la punta

rizada del betabel (BCTV), tanto en plantas de chile (*Capsicum annum*) como en diversos vectores.

4. APOYOS RECIBIDOS POR LOS PRODUCTORES PARA PROMOVER SU ADOPCIÓN. Los apoyos se han dirigido para la implementación de cursos de capacitación para el diagnóstico del virus de la punta rizada del betabel (BCTV) en la Unidad Académica de Ciencias Biológicas, de la Universidad Autónoma de Zacatecas (UAZ).

5. SOPORTE DOCUMENTAL DE LA ADOPCIÓN. Se cuenta con carta de adopción emitida por el Director de la Unidad Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas (UAZ), en donde por parte del laboratorio de Biología Molecular de Plantas, la utilizan para el diagnóstico del virus del BCTV. Así mismo, la tecnología ha sido publicada en el siguiente artículo: *Velásquez-Valle, R., Mena-Covarrubias, J., Reveles-Torres, L., Argüello-Astorga, G., Salas-Luevano, M., Mauricio-Castillo, J., 2012. First Report of Beet mild curly top virus in Dry Bean in Zacatecas, Mexico. Plant Disease 96, 771-771.*

6. VINCULACIÓN ACTUAL Y REQUERIDA. Se tienen alianzas con la Unidad Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas, así como en el Comité de Sanidad Vegetal del estado de Zacatecas apoyando la difusión y transferencia de esta tecnología .

7. APLICACIÓN POTENCIAL A PROGRAMAS DE DESARROLLO. Esta técnica puede ser utilizada en Laboratorios de investigación de Universidades, siendo además útil para Laboratorios de Fitopatología, de Diagnóstico, Centros de investigación, y Universidades, entre otros.

Mayor información

Para mayor información dirigirse a:

Dr. Luis Roberto Reveles Torres

INIFAP Campo Experimental Zacatecas

Dirección: Km 24.5 Carretera Zac- Fnillo

Apartado Postal 18. Calera, Zac. 98500

Tel y fax 01 (478) 98-5-01-98 / 99 ext. 401; 985-03-63

reveles.roberto@inifap.gob.mx

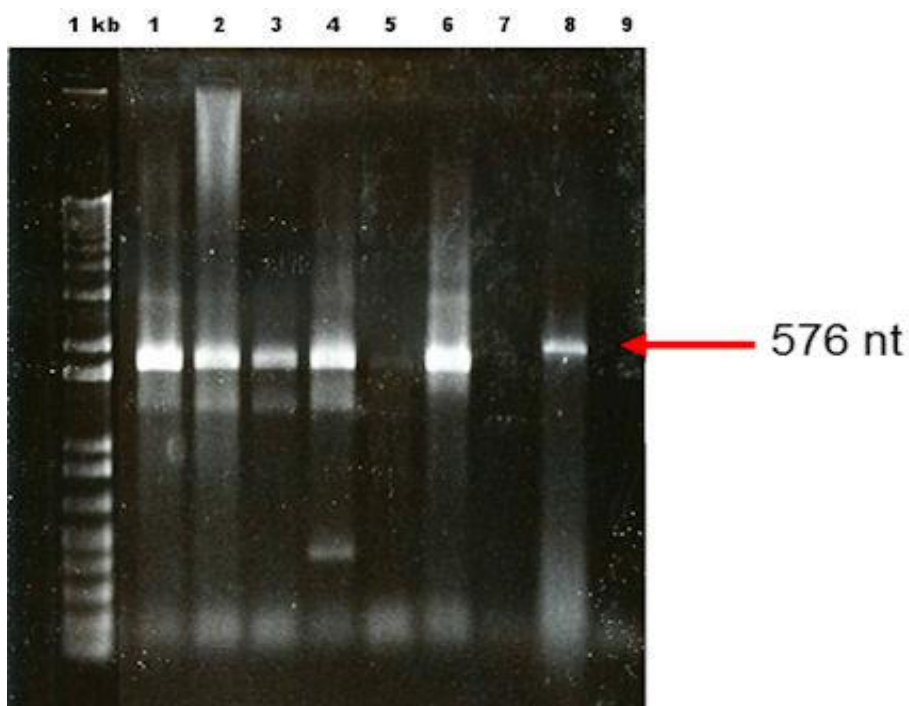
www.inifap.gob.mx

Fuentes Financieras:

- INIFAP
- COFUPRO



Planta de chile que muestra achaparramiento, amarillamiento, hojas gruesas y sin flores o frutos



Electroforesis en gel de Agarosa (1%) de productos de la PCR específicos para BCTV. Carril 1.- Testigo (+) BCTV Carriles 2,3,4,6 y 8 plantas con el virus (BCTV). Carriles 5,7 y 9 plantas negativas a BCTV