



## DESARROLLO Y APLICACIÓN DE PCR MULTIPLE PARA LA DETECCIÓN SIMULTANEA DE TRES VIRUS DE ADN EN CAMOTE (*Ipomoea batatas* L.)

### Development and application of PCR for multiple simultaneous detection of three dna virus in sweet potato (*Ipomoea batatas* l.)

**Berrocal, A., Rossel, G., Fuentes, S., Perez, A., Cuellar, W., Kreuze, J.** Centro Internacional de la Papa (CIP), Apartado 1558, Lima 12, Peru. e-mail: alfredo.bh17@gmail.com\*, g.rossel@cgiar.org, j.kreuze@cgiar.org

El Virus colusivodel camote (SPCV, género *Cavemovirus*), el virus del aclaramiento de venas del camote (SPVVCV, género *Solendovirus*) y el virus del enrollamiento de hojas del camote (SPLCV, género *Begomovirus*) son virus con genoma de ADN, presentes en el camote en infecciones virales simples o múltiples. La identificación y detección de estos virus es complicada, ya que con frecuencia son asintomáticos y están en concentraciones bajas en las plantas de camote. Se desarrollo una PCR múltiple (mPCR) con el objetivo de lograr la detección simultánea de SPCV, SPVVCV y SPLCV (y *Begomovirus relacionados*); para ello se seleccionaron cebadores específicos para SPCV y SPVVCV, y se utilizaron cebadores degenerados para *Begomovirus* (desarrollados por Li *et al.* 2004). Para la optimización de parametros se usaron plantas de camote con infecciones simples y mixtas. Se Optimizo la concentración de cebadores (0,1-0,3uM), MgCl<sub>2</sub> (2,5-8,0mM), dNTPs (0.2-0.8mM), Taq-polimerasa (2-4U), parametros en el termociclador (temperatura de hibridación de 48-62 °C y el número de ciclos de 29-35), y la cantidad de ácidos nucleídos (50-300ng). Para validar el mPCR se uso plantas de camote de una colección de germoplasma *in vitro* que estaban infectados con los virus en estudio y fueron confirmados por clonación y secuenciamiento de las amplificaciones obtenidas. Los pares de cebadores específicos seleccionados para cada virus pudieron amplificar fragmentos de ADN entamaños esperados, a una concentración final de 0.16uM para cebadores de SPCV y SPVVCV, y 0.2uM para SPLCV. Además la concentración de ADN adecuada está entre 50-100ng, con 30 ciclos térmicos y 53°C de temperatura de hibridación. Este ensayo demostró ser simple, sensible y confiable para el diagnóstico de rutina de SPCV, SPVVCV y SPLCV (y *Begomovirus relacionados*). El ensayo de mPCR será útil para programas de cuarentena, como un método rápido y rentable para un gran número de muestras.

## SECUENCIA GENÓMICA COMPLETA DE UN AISLADO PERUANO DE *Andean potato mottle virus* (APMoV, GÉNERO *Comovirus*) UTILIZANDO SECUECIAMIENTO DE SIGUIENTE GENERACIÓN.

### Complete genomic sequence of a Peruvian isolate of *Andean potato mottle virus* (APMoV, genus *Comovirus*) using next generation sequencing

**De Souza, J.<sup>1</sup>; Müller, G.<sup>1</sup>; Cuellar, W.<sup>2</sup>; Kreuze, J.<sup>1</sup>** Centro Internacional de la Papa (CIP), Área Virología. Lima –Perú. <sup>2</sup> Centro Internacional del Arroz Tropical (CIAP), Área Virología. Cali – Colombia. E-mail: j.desouza@cgiar.org, g.muller@cgiar.org, w.cuellar@cgiar.org, j.kreuze@cgiar.org

*Andean potato mottle virus* (APMoV, género *Comovirus*) es un patógeno importante de varias plantas Solanaceas, que incluyen papa, tomate y tabaco, pero hasta la fecha sólo está disponible datos de secuencias parciales. En este estudio, se determinó el genoma completo de APMoV utilizando secuenciamiento con ARN pequeños de interferencia (ARNpi) y su ensamblaje. Se extrajo ARN total de