

EVALUACIÓN EN CAMPO DE LA RESISTENCIA DE LÍNEAS TRANSGÉNICAS DE CIRUELO EUROPEO (*PRUNUS DOMESTICA* L.) A *PLUM POX VIRUS*

N. Capote, M.T. Gorris, M.C. Martínez y M. Cambra.

Departamento de Protección Vegetal y Biotecnología, IVIA. 46113 Moncada, Valencia.

Palabras clave: Sharka, resistencia, transgénicas, ELISA, IC-RT-PCR.

INTRODUCCIÓN

La sharka es la enfermedad viral más grave de frutales de hueso. Afecta especialmente a albaricoquero, melocotonero y ciruelo produciendo deformación, pérdida de calidad y caída prematura de los frutos. Esto causa importantes pérdidas económicas en la industria de frutales de hueso. El agente causante de la sharka es *Plum pox virus* (PPV). PPV se transmite a través de pulgones y mediante injerto, siendo el transporte y uso ilegal de material infectado la principal causa de la dispersión de la enfermedad a larga distancia.

Existen programas de mejora encaminados a la obtención de variedades de prunus resistentes a PPV. Sin embargo, el largo tiempo que requiere esta técnica unido a la naturaleza poligénica de la resistencia y a la falta de fuentes de resistencia compatibles han hecho que se obtengan escasos éxitos y únicamente en albaricoquero. Una técnica alternativa o complementaria es el uso de la resistencia derivada del patógeno (PDR) mediante la obtención de plantas transgénicas que expresan un gen viral. Esto confiere a la planta resistencia frente al virus del cual procede el gen y frente a virus relacionados. En este sentido, Scorza et al. (1994) obtuvieron líneas de ciruelo europeo (*Prunus domestica* L.) que expresan el gen de la proteína de la cápsida de PPV. En condiciones de invernadero estas líneas transgénicas mostraron distintos grados de sensibilidad a la infección por PPV, con excepción de la línea C5 que demostró ser altamente resistente a la infección natural (a través de pulgones) de PPV. Cuando las plantas C5 se inocularon mediante injerto, se desarrolló una infección muy leve y sólo en zonas localizadas de las plantas.

Los principales objetivos de este trabajo fueron: 1) la evaluación en campo de la resistencia natural a PPV de 5 líneas transgénicas con distintas susceptibilidades a PPV (C4, C5, C6, PT6 y PT23) y 2) la evaluación del riesgo ambiental de la liberación al campo de ciruelos transgénicos sobre la diversidad de poblaciones de PPV, pulgones y de otros insectos de la microfauna.

MATERIALES Y MÉTODOS

En 1997 se estableció una finca experimental en Lliria, Valencia donde se plantaron dos filas de cada línea de ciruelo europeo transgénico (5 árboles/línea sobre patrón *P. marianna*) separadas por filas de ciruelo no transgénico europeo y japonés (*P. salicina* Lind.). La presencia de PPV fue seguida anualmente (entre 1997 y 2005) en todos los árboles mediante inspección visual de síntomas (anillos y manchas cloróticas en hojas), ELISA-DASI usando el anticuerpo monoclonal 5B-IVIA (Cambra et al., 1994) e IC (inmuncaptura)-RT-PCR usando los iniciadores P1 y P2 (Wetzel et al., 1991), según la metodología recomendada por la EPP0 (2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las líneas transgénicas C6, PT6 y PT23 no mostraron resistencia a la infección natural por PPV, comportándose como las plantas control no transgénicas: el 100% de las plantas estaban infectadas con PPV al final del periodo experimental. La línea transgénica C4 mostró un marcado retraso en la infección y una distribución irregular de los síntomas, aunque al final del periodo experimental todos los ciruelos C4 estaban infectados con PPV. La línea C5 demostró ser altamente resistente a la infección natural por PPV. Ninguno de los 10 ciruelos C5 analizados se infectó con PPV después de estar 8 años en el campo, a pesar de estar sobre un patrón altamente susceptible a PPV e infectado con el virus. La presión de inóculo de la parcela fue grande, no sólo por las inoculaciones iniciales sino por la gran afluencia de pulgones vectores de PPV que visitaron los ciruelos transgénicos y no transgénicos (*Aphis spiraeicola* y *A. gossypii*, fundamentalmente). El carácter de resistencia a PPV de los C5 se debe a un silenciamiento post-transcripcional (PTGS) y se transmite a la progenie, lo que hace de los ciruelos transgénicos C5 una fuente excelente de resistencia a PPV. Por otro lado, el cultivo de ciruelos transgénicos en la vecindad de cultivos convencionales no supuso ningún riesgo ambiental en cuanto a alteración de la diversidad de poblaciones de PPV, número y especies de pulgones y otros insectos que infectan o visitan plantas transgénicas y no transgénicas.

REFERENCIAS

- Cambra, M., Asensio, M., Gorris, M.T., Pérez, E., Camarasa, E., García, J.A., López-Moya, J.J., López Abella, D., Vela, C., and Sanz, A. 1994. Detection of plum pox potyvirus using monoclonal antibodies to structural and non structural proteins. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 24: 569-577.
- EPPO 2004. Diagnostic protocol for regulated pests. Plum pox potyvirus. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 34: 247-256.
- Scorza, R., Ravelonandro, M., Callahan, A.M., Cordts, J.M., Fuchs, M., Dunez, J., and Gonsalves, D. 1994. Transgenic plums (*Prunus domestica* L.) express the plum pox virus coat protein gene. Plant Cell Reports 14: 18-22.
- Wetzel, T., Candresse, T., Macquaire, G., Ravelonandro, M., and Dunez, J. 1992. A highly sensitive immunocapture polymerase chain reaction method for plum pox virus detection. Journal of Virological Methods 39: 27-37.

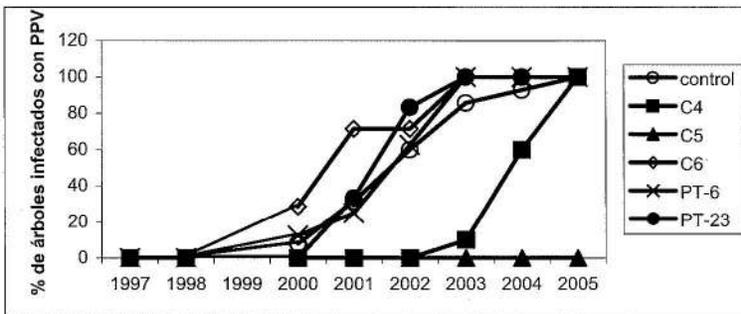


Figura 1. Evaluación temporal de la infección natural por PPV de líneas transgénicas de ciruelo europeo portadoras del gen de la proteína de la cápsida de *Plum pox virus*. El control consiste en ciruelo europeo y japonés no transgénicos