

Desarrollo de mecanismos de defensa por percepción de volátiles frente al virus *Watermelon mosaic virus* en la planta del melón

Castejón, Ana¹. Verdú, Lucía¹. Bernal, Mónica¹. López, Carmen². Ramírez, Yolanda³. Truniger, Verónica².

¹ Alumnas I.E.S Floridablanca. ² Investigadoras CEBAS-CSIC. ³ Profesora I.E.S Floridablanca.

Resumen

Las plantas interactúan con el entorno mediante partículas volátiles. En este trabajo estudiamos la interacción entre plantas de melón infectadas y no infectadas por el *Watermelon mosaic virus*, analizando si las infectadas pueden inducir mecanismos de defensa frente a este virus en las sanas. Hemos realizado un experimento consistente en un grupo control de plantas sanas y otro en el cual las plantas sanas conviven con algunas infectadas. Tras unas horas de convivencia, se han inoculado todas las plantas y posteriormente se ha analizado su posible infección. Los resultados demuestran que las plantas infectadas son capaces de inducir un mecanismo de defensa frente al virus en plantas sanas cercanas.

Introducción

Al ser las plantas organismos inmóviles, han desarrollado mecanismos de interacción con su entorno. Uno de ellos es la liberación de compuestos volátiles a través de los estomas de la epidermis de la hoja que permiten el intercambio gaseoso.

Los compuestos volátiles contienen carbono y pueden atravesar la membrana y salir a la atmósfera. Realizan funciones tales como la atracción de polinizadores, defensa, dispersión de semillas, etc.

El virus del mosaico de la sandía (*Watermelon mosaic virus*) produce moteados y mosaicos en todas las cucurbitáceas, entre las que se encuentra el melón, y disminuye la producción y la calidad de sus frutos. En las hojas se observan mosaicos amarillos suaves, deformaciones, filimorfismo y abullonamientos. En los frutos se observan cambios de color, mosaicos y deformaciones.

Este virus tiene una distribución mundial y en España se ha citado en Murcia, Almería, Aragón, Cataluña, Extremadura, Madrid y Valencia.

Hipótesis

Una planta sana que convive con una infectada por el virus *Watermelon mosaic virus* puede ser "avisada" por la infectada a través de señales volátiles que inducen en la sana mecanismos de defensa contra el mismo.

Objetivo general

Comprobar la hipótesis

Objetivos específicos

- Verificar si una planta infectada puede emitir señales volátiles que la planta sana pueda captar y estudiar si estas señales pueden protegerla.
- Comprobar la efectividad de la posible protección frente a inóculo diluido o concentrado.
- Comprobar la efectividad de la posible protección dependiendo de la edad de la planta, inoculando en cotiledón (7 días) o en hoja (15 días)
- comprobar si se desarrollan síntomas por infección viral y analizar la presencia de RNA del virus en las plantas sin/con pocos síntomas.

Materiales

- Plantas de melón (65 plantas)
- Anticuerpos ELISA
- Carborundo
- Enzima (fosfatasa alcalina)
- Gel de agarosa
- Transcriptasa reversa con cebadores
- Mezclas para PCR
- Nitrógeno líquido
- DTT
- Sustancia tampón

Instrumentación

- Pipetas
- Gradilla
- Puntas
- Cubo para el nitrógeno
- Cubetas
- Espectrofotómetro
- Tubos
- Mortero
- Cucharas
- Centrifugadora
- Termobloque

Métodos

1. Inoculación

Infección con carborundo y tampón fosfato en hoja o cotiledón.



Nitrógeno líquido utilizado para el análisis del RNA.

2. ELISA

Detección de la infección mediante test ELISA utilizando anticuerpos contra la proteína de la cápsida del virus.



Separación en tubos de las muestras de la plantas para el ELISA.

3. Extracción RNA

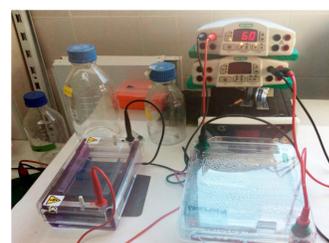
Separación de proteínas del RNA de las hojas de las muestras.



Centrifugación de los tubos.

4. Retrotranscripción

Copia de la cadena de RNA viral en ADN.



Replicación de la cadena de RNA viral en el gel de agarosa usando diversa instrumentación.

5. PCR

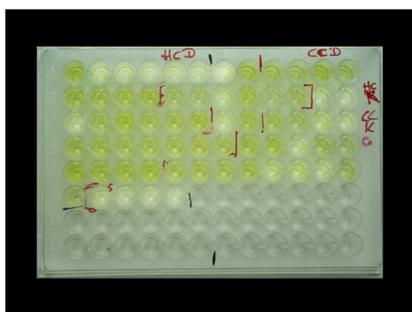
Amplificación de la retrotranscripción específica para RNA viral y gen endógeno.



Termobloque para la preparación de la PCR.

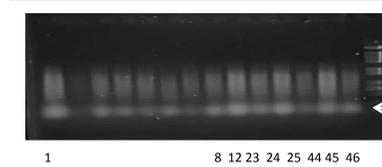
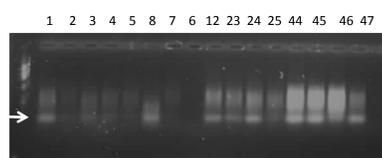
Resultados

ELISA



Análisis del RNA de las muestras

RT-PCR virus



RT-PCR ciclofilina

Valores obtenidos

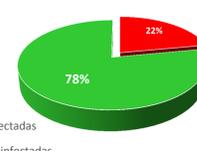
	Total	Infectadas	No infectadas	% infectadas	% no infectadas
Control	16	13	3	81%	19%
Convividas	18	4	14	22%	78%

Número y porcentaje de plantas infectadas y no infectadas, para el grupo de control y el convivido, tras exponerlas al virus

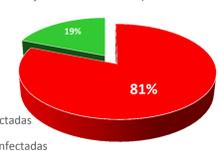
Los análisis de detección de virus muestran que se infectó solo el 22% de las plantas convividas con las enfermas. Sin embargo el nivel de infección de las plantas control fue del 81%.

Por lo tanto, podemos confirmar la hipótesis de que en una planta infectada es capaz de inducir en una planta sana cercanos mecanismos de defensa contra el mismo.

Porcentaje de infección en las plantas convividas



Porcentaje de infección en las plantas control



Conclusión

La producción de volátiles por parte de plantas infectadas induce una respuesta de defensa en plantas sanas cercanas.

Referencias

<http://www.dpvweb.net/intro/>

<http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/pathogengroups/pages/plantvirusesespanol.aspx>

<http://jmmulet.naukas.com/2016/07/15/811/>

<https://prezi.com/qnhjmizsari/determinacion-de-componenetes-volaticos-de-plantas-usando-mi/>

<https://prezi.com/ma6nw4v0ikil/emision-y-funcion-de-los-compuestos-volaticos-en-plantas/>