

Desarrollo de mecanismos de defensa por percepción de volátiles frente al virus *Cucumber Green Mottle Mosaic Virus* en la planta del melón

Abellán, Isabel¹. Herreros, Elena¹. López, Carmen². Truniger, Verónica². Martínez, Magdalena³.

¹ Alumnas I.E.S Infante Don Juan Manuel. ² Investigadoras CEBAS-CSIC. ³ Profesora I.E.S Infante Don Juan Manuel.

Resumen

Las plantas tienen la capacidad de comunicarse entre ellas y anticiparse a las amenazas de virus. Este fenómeno es estudiado desde hace algunos años y se piensa que los responsables son los aromas que emiten las plantas al ambiente.

Se pretende averiguar si la presencia de una planta infectada en el entorno de otras que están sanas, podría alterar mediante aromas la reacción defensiva de las segundas hacia dicho agente vírico. Con este fin, se han empleado plantas infectadas con el virus del mosaico verde jaspeado del pepino (CGMMV) y otras con el virus del mosaico de la sandía (WMV), distribuyéndolas en espacios diferentes junto a plantas sanas. Posteriormente, se han inoculado las sanas con CGMMV y, de esta forma, se han podido analizar dos casos distintos: en primer lugar, si las plantas cercanas a las infectadas con el mismo virus presentan una defensa eficaz ante él; y el segundo lugar, si este mecanismo es efectivo en plantas que se defienden ante un virus distinto (CGMMV) con el que han convivido.

Introducción

A lo largo de la historia, las especies han desarrollado diferentes mecanismos de defensa para sobrevivir. Las plantas, al ser inmóviles, se cree que han podido desarrollar otros sistemas de protección, siendo estos casi imperceptibles para nosotros. A través de los olores, las plantas serían capaces de advertir a sus compañeras de una amenaza cercana, como un virus.

Por otra parte, el cultivo de las cucurbitáceas, como el melón, la sandía o el pepino, es uno de los pilares de la economía española, generando 2,7 millones de toneladas y 350 millones de euros cada año; de modo que las enfermedades provocadas por virus suponen grandes pérdidas económicas, la más frecuente es la del virus del mosaico de la sandía (WMV).

Hipótesis

Cuando una planta de melón es infectada por un virus, emplea compuestos orgánicos volátiles para avisar a las plantas vecinas de su misma especie de que hay un agente patógeno en el ambiente, a fin de que tomen medidas protectoras, empleando como virus el del mosaico verde jaspeado del pepino (CGMMV) junto al WMV.

Objetivo general

Verificar si se despliegan mecanismos de autodefensa efectivos para combatir el virus al recibir estímulos volátiles.

Objetivos específicos

- Estudiar las reacciones para defenderse de agentes patógenos y profundizar en el virus empleado.
- Estudiar si el sistema de defensa inducido es específico de un virus o general para diferentes virus.
- Conocer y aplicar técnicas de inoculación de virus en plantas.
- Aprender a realizar el reconocimiento de las plantas de melón infectadas con los virus WMV y CGMMV a simple vista.
- Aprender a emplear técnicas de identificación de pequeñas partículas para obtener unos resultados fiables. En este caso, realizar el método ELISA.
- Conocer los principales volátiles generados por las plantas del melón, así como su composición.
- Cotejar los resultados obtenidos con los de investigaciones anteriores.

Materiales

- Plantas de melón (104 plantas)
- Extractos de los virus CGMMV y WMV
- Anticuerpos ELISA
- Carborundo
- Carbón activo
- Tampón fosfato (10ml)
- Tampón de extracción (250µl)

Instrumentación

- Pipetas
- Cámara de incubación
- Invernadero
- Morteros esterilizados
- Tubos de contención
- Pistilos
- Centrifugadora

Métodos

1. Plantación

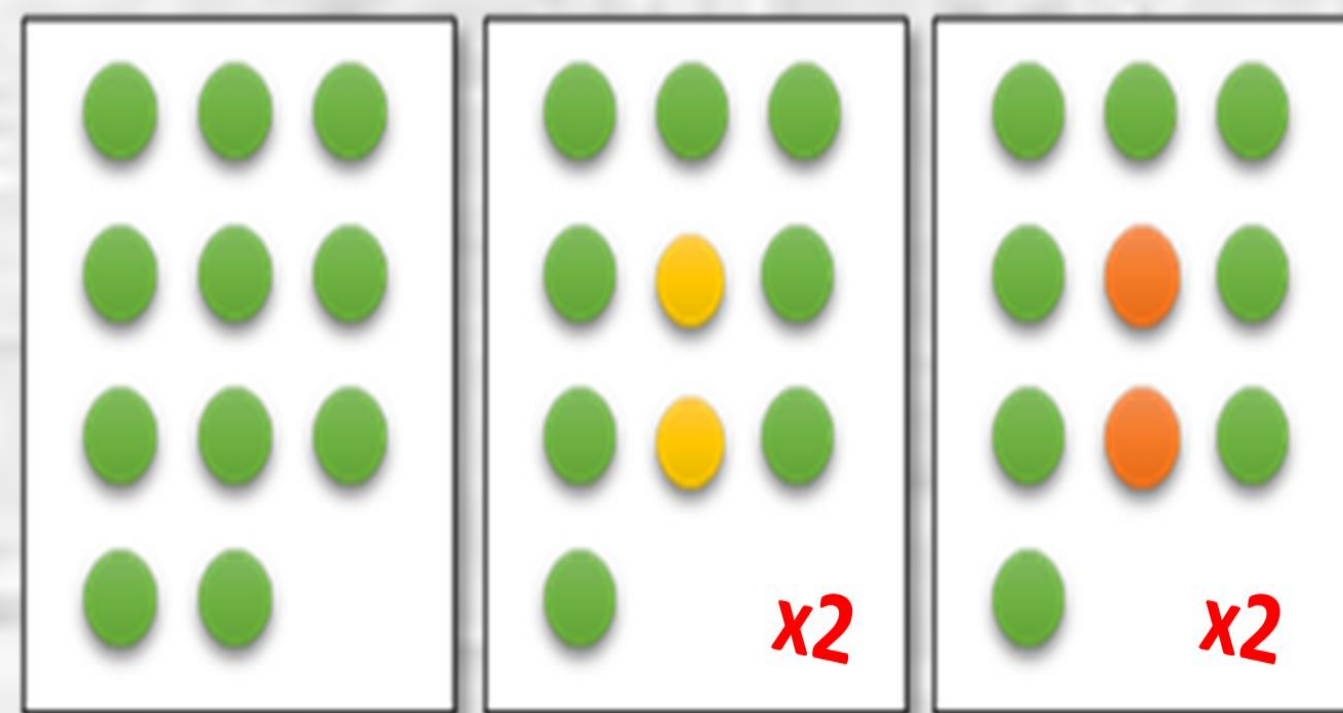
104 semillas de melón repartidas en 2 experimentos.



Cámara de incubación 18h de luz a 25°C y 8h de oscuridad a 18°C.

2. Distribución

Poner en el entorno de las plantas sanas, plantas de melón infectadas con CGMMV y WMV.



Verde: Control. Amarillo: Planta infectada con WMV. Rojo: Planta infectada con CGMMV

3. Inoculación

Infección con carborundo, carbón activo y tampón fosfato en hoja.



Creación de una herida en la epidermis de la hoja para la entrada del virus.

4. Separación de proteínas

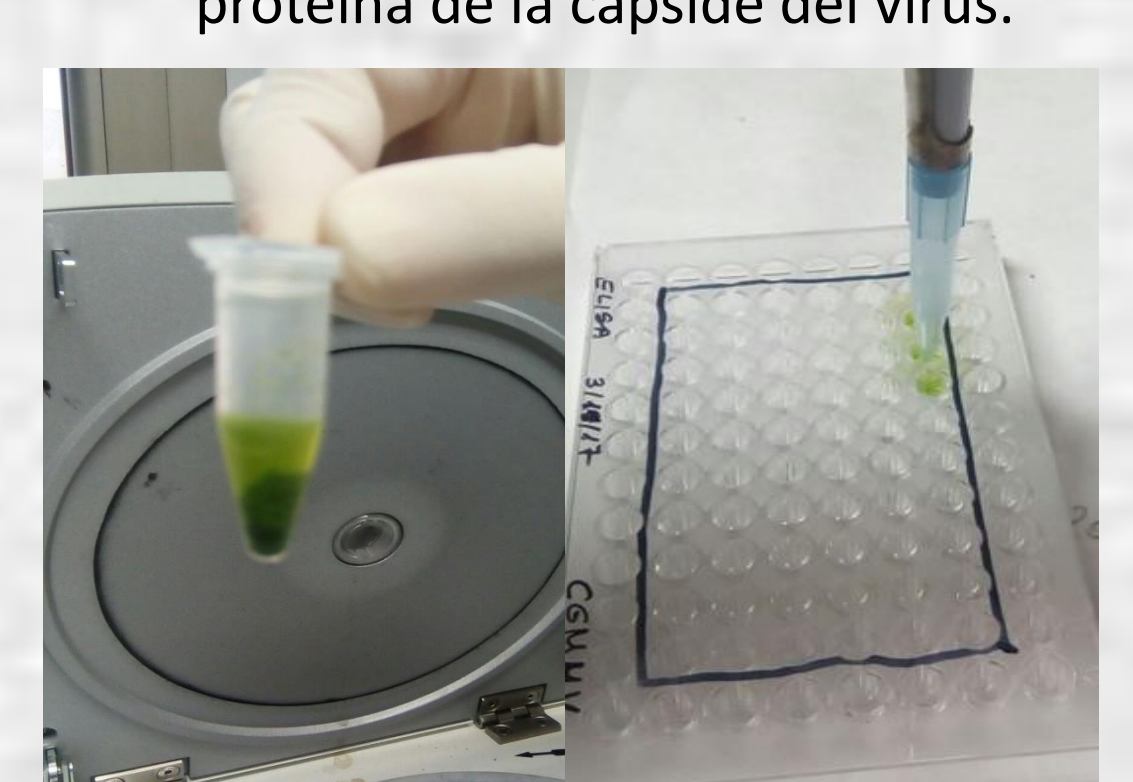
Extracción de muestras y mezcla para obtener una disolución proteica.



Tubo de contención y centrifugadora (14000 rpm).

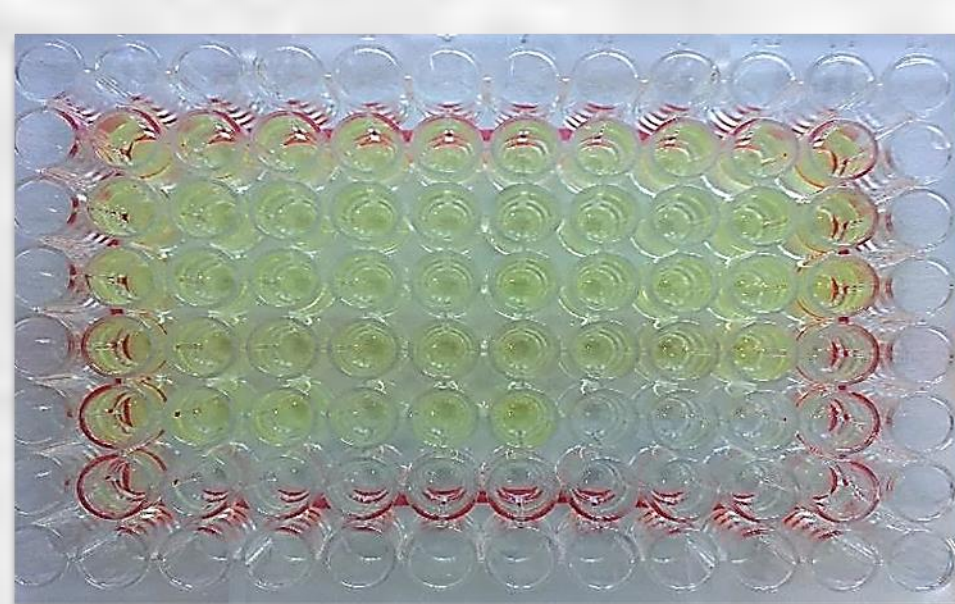
5. ELISA

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



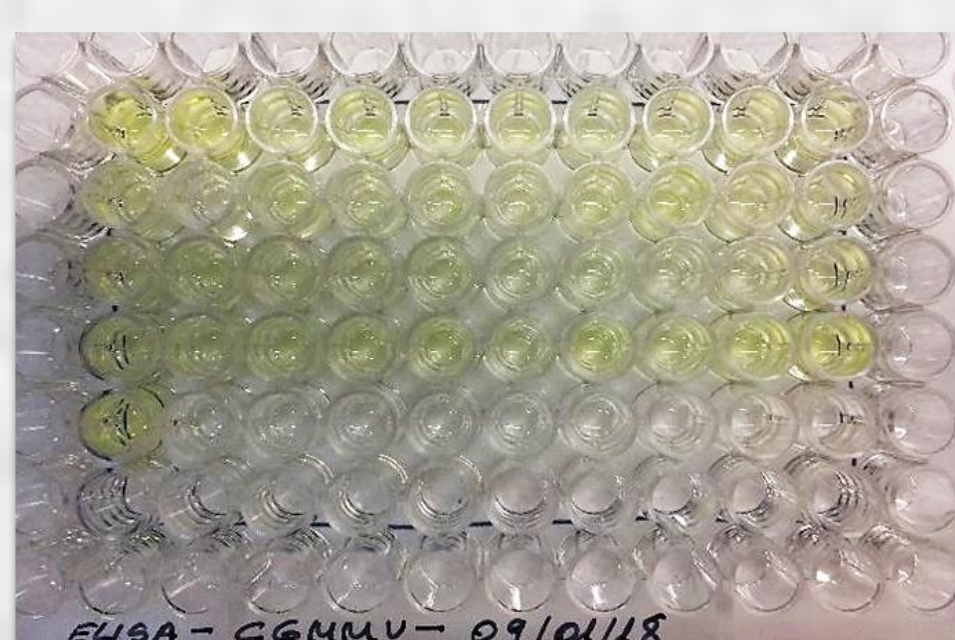
Introducción de la disolución proteica en la placa ELISA.

Resultados



Experimento 1

Los pocillos del 1 al 43 (de izquierda a derecha), salvo el 40, son las muestras de las plantas del experimento; del 44 al 46 son las muestras de las plantas infectadas al principio (controles positivos); y del 47 al 50 corresponden con las plantas no infectadas (controles negativos).



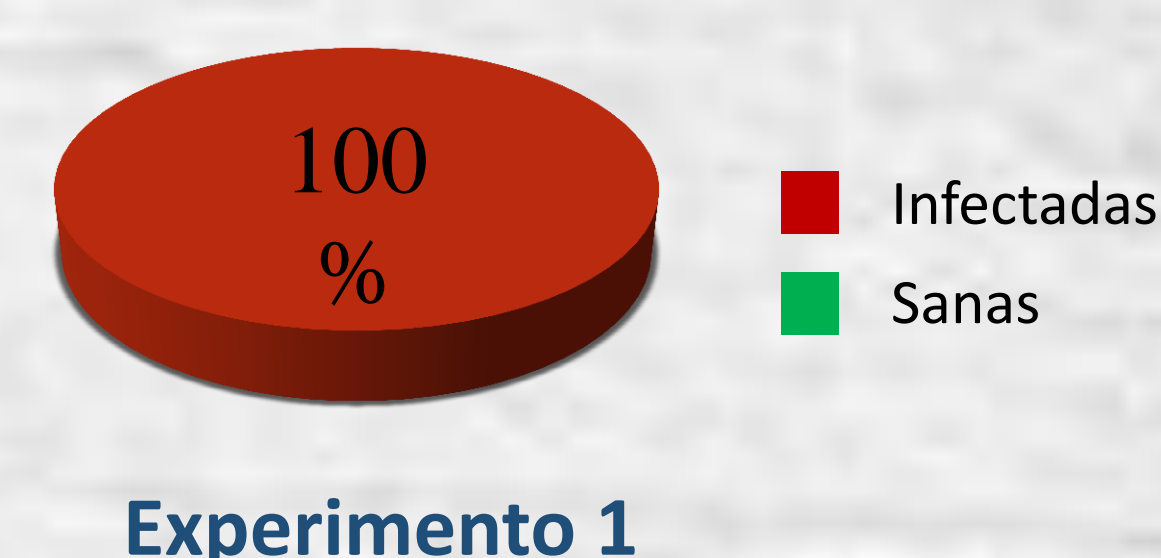
Experimento 2

Las muestras de los pocillos del 1 al 41 corresponden a las plantas experimentales y las del 42 al 45 son de plantas no infectadas (controles negativos).

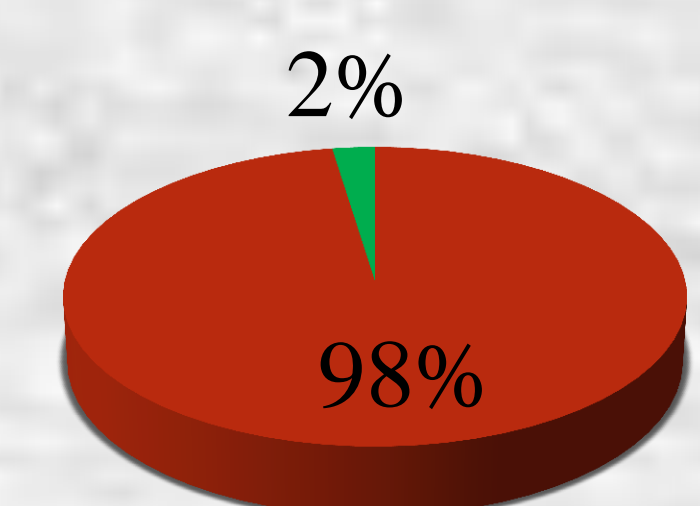
Síntomas visuales



En general, más de 25 plantas en cada experimento presentaron síntomas y 14 no, así pudimos prever que en menos de la mitad fue efectiva la defensa. Para comprobarlo, realizamos el método ELISA.



Experimento 1



Experimento 2

Conclusión

Las conclusiones finales no son claras, pues no existe la certeza de si las plantas infectadas avisan a las sanas induciendo en ellas una respuesta que las proteja de la infección posterior.

En el experimento precedente con el virus del WMV se realizó el estudio con una presión de inóculo baja, por tanto, es posible que la concentración de virus utilizada fuera excesiva, puesto que la eficiencia de infección de cada virus es diferente. Futuros experimentos podrán concluir si las plantas infectadas con CGMMV o WMV son capaces o no de inducir en las sanas una respuesta que las proteja del virus CGMMV.