



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**El papel de la expresión de síntomas
causados por *Potato yellow vein
virus* (PYVV) en la manipulación de
su vector, la mosca blanca de los
invernaderos, *Trialeurodes
vaporariorum* (Hemiptera:
Aleyrodidae)**

Diego Fernando Vásquez Mendieta

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Agronomía
Bogotá D.C., Colombia
2020

El papel de la expresión de síntomas del *Potato yellow vein virus* (PYVV) en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)

Diego Fernando Vásquez Mendieta

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título de: **Magister en Ciencias Agrarias**

Director:

PhD. Diego Fernando Rincón Rueda

Codirector:

PhD. Oscar Arturo Oliveros Garay

Línea de Investigación:

Fito protección integrada

Grupo de Investigación:

Control biológico de plagas agrícolas

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Agronomía
Bogotá D.C., Colombia

2020

*A mis padres, por ser la luz en mi vida
A la mujer que edifica y alegra mis días
A mis hermanas, por quienes lucho*

Agradecimientos

A mi director, el doctor Diego Rincón por ser parte fundamental de mi formación como investigador y tener toda la disposición para llevar a cabo este trabajo bajo la filosofía de la ciencia.

A mi codirector, el profesor Oscar Oliveros por permitirme integrarme al mundo de la virología, sus consejos y orientación.

Al señor Alfredo Salamanca y a todos los productores de papa de Colombia que colaboraron con la realización de este estudio

A la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), por suministrar los laboratorios, invernaderos, material vegetal, material biológico, reactivos, capacitación, visibilización y talento humano al servicio de esta investigación.

A la Universidad Nacional de Colombia por permitirme ser parte de su comunidad académica, formándome como investigador y como persona.

A los investigadores Felipe Borrero, Paola Zuluaga, Anggie Hernández, Fernando Rivera, y Diana Torres por su participación, orientación y colaboración directa con esta investigación.

A Gustavo Araque, Carolina Ruiz, Lorena García, Stephanie Numa, Manuel Patiño, Claudia Mesa y Diego Sánchez por su colaboración logística y de disposición de material y talento humano para llevar a cabo este estudio.

A Carlos Espinel, Juliana Gómez y Gloria Barrera por permitirme la oportunidad de tener un espacio en el grupo de investigación y el tiempo para desarrollar este trabajo.

Al grupo de Control Biológico de plagas agrícolas, por brindarme su apoyo, tiempo y orientación durante el transcurso de esta investigación.

A mi familia, por darme el apoyo necesario cada vez que lo necesité antes, durante y posterior al desarrollo de este trabajo.

A Marcela Rodríguez, por todo su amor, comprensión y paciencia durante este periodo de estudios.

A Ingrid, Roberto y Nathan por apoyarme en terminar mis estudios de posgrado.

A todos los amigos, familiares y compañeros que me apoyaron durante mi periodo de estudios.

1. Resumen

Los virus transmitidos por vectores pueden manipular la expresión de síntomas en las plantas hospederas para incrementar la probabilidad de ser llevados a un nuevo hospedero sano. Los mecanismos de transmisión de estos virus se clasifican en tres categorías, de acuerdo con el tiempo de persistencia de los virus en los vectores: persistente (TP), semi persistente (TSP) y no persistente (NP). El mecanismo de transmisión implica diferencias en el tiempo que el virus es infectivo dentro del insecto vector, y su capacidad de invadir y replicarse dentro del vector (acá se hablaría de si es dentro del vector es propagativo o circulativo). Por este motivo, con frecuencia, los virus modulan la manipulación que ejercen sobre sus hospederos en función de la modalidad de transmisión. Las predicciones relacionadas con la manipulación de los vectores de virus con mecanismo TSP asumen que su estrategia debe ser un punto intermedio entre los virus con TP y NP. Sin embargo, en diversos estudios se ha evidenciado que su complejidad va más allá de ser un punto intermedio y que en realidad pueden compartir características de los virus TP y NP, de acuerdo con ciertos rasgos particulares del sistema.

El *Potato Yellow Vein Virus* (PYVV) es un virus transmitido de forma semipersistente (TSP) y es el agente causal de la enfermedad del amarillamiento de las nervaduras de la hoja de papa (PYVD del inglés Potato Yellow Vein Disease), una enfermedad reemergente de los cultivos de papa en el norte de América del Sur. La infección por el PYVV, que puede ser asintomática, se transmite verticalmente a través de los tubérculos de semillas infectados u horizontalmente por la mosca blanca de los invernaderos (MBI) *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae). Los síntomas de la enfermedad en plantas de papa presentan un desarrollo primario y uno secundario. Los síntomas de desarrollo primario se dan mediante una clorosis de las nervaduras secundarias y terciarias de las hojas del tercio superior de las plantas de papa. Usualmente, estos

síntomas se dan en el borde de las hojas y que se va extendiendo hasta el interior, siendo más severo I envés de los folíolos.

El tiempo en el que los adultos de la MBI son infectivos después de adquirir el virus puede ser desde días a semanas, haciendo que la reducción de poblaciones de los vectores mediante tratamientos químicos sea generalmente ineficaz para controlar las epidemias de PYVV. Así mismo, la comprensión del rol de los efectos de los virus en las plantas sobre la ecología de los insectos vectores puede ser útil para comparar y contrastar las adaptaciones clave asociadas a modalidades de transmisión que no impliquen vectores (i.e., transmisión vertical o transmisión mecánica). Este estudio tiene como objetivo comprender el efecto que tiene la expresión de los síntomas como estrategia de los virus tipo TSP para transmitirse y permanecer en el ambiente para propagarse en nuevos hospederos; así como realizar un acercamiento a algunos de los factores abióticos que inducen la expresión de síntomas en el hospedero. Al final, este trabajo pretende generar conocimiento que permita avanzar en investigaciones de estrategias de manejo agronómico más sostenibles.

Con el objetivo de evaluar el efecto de la expresión de síntomas de PYVD en las plantas de papa sobre la sobrevivencia, el desarrollo y el comportamiento de su vector MBI, se realizaron experimentos bajo condiciones controladas en cámaras climáticas. Se evaluó la sobrevivencia de estados inmaduros, el tiempo medio de emergencia de adultos, la preferencia y asentamiento de los insectos alimentados de plantas libres de virus, infectadas asintomáticas e infectadas sintomáticas. También se evaluó la expresión de síntomas del virus y la cuantificación relativa del virus en plantas de papa sometidas a diferentes temperaturas y condiciones de estrés hídrico.

Se encontró que la sobrevivencia de MBI se vio afectada al comprar los insectos alimentados con plantas sanas y los alimentados con plantas infectadas, pero no cuando se comparan entre plantas sintomáticas o asintomáticas. Con respecto al desarrollo de MBI, se evidenció que el tiempo medio de emergencia de adultos fue mayor en plantas infectadas con síntomas que en plantas sanas, pero fue aún mayor en plantas asintomáticas. El comportamiento de los adultos de MBI cambió dependiendo de la dieta previa. Se encontró que mientras la MBI no tuvo un contacto previo con PYVV al inicio del experimento, esta prefirió seleccionar las plantas infectadas sintomáticas para su

alimentación, en lugar de las infectadas asintomáticas o las libres de virus. Sin embargo, cuando MBI fue alimentada previamente con plantas de papa infectadas con PYVV, esta prefirió las plantas sanas. No se encontró evidencia que sustentara que la temperatura tiene un efecto sobre la expresión de los síntomas en plantas infectadas con PYVV, al menos en el rango de temperaturas probado en este estudio. Por otro lado, en aquellas plantas en las que hubo un déficit hídrico, los síntomas fueron evidentes tras tres días después del riego. Mientras que las plantas bien regadas tuvieron una expresión de síntomas retardada, que se produjo entre 10 y 25 días después de las plantas que fueron sometidas a estrés por sequía.

En conclusión, la expresión de los síntomas del PYVV en las plantas de papa tiene un efecto directo tanto en la tasa de desarrollo como en el comportamiento de su vector MBI, y estos síntomas pueden desencadenarse por episodios de déficit hídrico. Las conclusiones de este estudio evidencian que los virus con TSP comparten características de virus con TP y NP, mostrando, además, que la alimentación previa de los vectores influye en su elección y retención sobre nuevos hospederos, así como el hecho de que un periodo de sequía prolongado permite que las plantas sean más susceptibles a expresar síntomas y atraer a nuevos vectores. Estos factores pueden ser tenidos en cuenta al momento de establecer prácticas para manejar y prevenir futuras epidemias de PYVV.

Palabras clave: Transmisión horizontal, comportamiento, Hemíptera, alimentación de vectores, epidemia, virus vegetal.

2. Abstract

Vector-borne viruses can manipulate the expression of symptoms in host plants to increase the likelihood of being carried to a new healthy host. Virus transmission can occur through three mechanisms, depending on the time they persist within the vector: persistent (PT), semi-persistent (SPT) or non-persistent (NP). The transmission mechanism implies differences in the time it takes for the virus to enter, and its capability to invade and replicate inside the vector. Therefore, often, viruses modulate vector manipulation as a function the transmission mechanism. Predictions associated with vector manipulation by SPT viruses assume that their strategy should be an intermediate point between PT and NP. However, several studies have shown that their complexity goes beyond being an intermediate point, and that these viruses may share characteristics of PT and NP viruses, according to certain traits associated with the particular system.

Potato Yellow Vein Virus (PYVV) is classified as a SPT and the causal agent of potato yellow vein disease (PYVD), a re-emerging disease of potato crops in northern South America. Infection with PYVV, which may be asymptomatic, is transmitted vertically through infected seed tubers or horizontally by the Greenhouse Whitefly (GWF) *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae). The symptoms of PYVD in native potato plants show a primary and a secondary development. The symptoms of primary development occur through a chlorosis of the secondary and tertiary veins of the leaves of the upper third of potato plants. Usually, these symptoms occur at the edge of the leaves and it spreads to the inside, always more noticeable on the underside of the leaves.

The time in which GWF adults are infectious can range from days to weeks, making the reduction of vector populations through chemical treatments generally ineffective in controlling epidemics. Likewise, understanding the role of the effects that viruses cause in plants on the ecology of insect vectors can be useful in comparing the key adaptations associated with modes of transmission that do not involve vectors (ie, vertical transmission or mechanical transmission). This study focuses on understanding the effect of symptom expression as a strategy for SPT viruses to transmit and remain in the environment to infect new hosts; as well as to examine some of the abiotic factors that may induce symptom expression in the host plants. Finally, this work aims to provide useful knowledge that allows the development of more sustainable agronomic management strategies.

In order to evaluate the effect of the expression of symptoms of PYVD in potato plants on the survival, development and behavior of its GWF vector, experiments were carried out under controlled conditions in climatic chambers. Survival of immature stages, average time of emergence of adults, and preference and settlement of insects fed on virus-free, and infected asymptomatic and symptomatic plants were evaluated and compared. The expression of symptoms and the relative quantification of the virus in potato plants growing under different temperature and water deficit conditions.

We found that survival of GWF was affected when insects feed from infected plants instead free-virus plants but not between symptomatic or asymptomatic plants. Regarding the development of GWF, it was evident that the mean emergence time of adults was longer in symptomatic, infected plants than in healthy plants, but it was even longer in asymptomatic, infected plants. The behavior of the GWF adults changed depending on their previous diet. I found that, when GWF did not have any contact with PYVV prior to the experiment, they preferred to select symptomatic infected plants for feeding rather than asymptomatic or virus-free plants. However, when GWF was pre-fed with potato plants infected with PYVV, they preferred healthy plants. On the other hand, I found that temperature does not have a significant effect on symptom expression, at least at the temperature range I evaluated. However, in those plants in which there was a drought stress, symptoms were evident three days after watering, regardless of the temperature. Well-watered plants had delayed symptom expression, which occurred 10 to 25 days after plants under drought stress.

In conclusion, symptom expression of PVV in potato plants has a direct effect on both the physiology and behavior of its GWF vector and can be triggered by water stress. This study shows that SPT viruses share characteristics with TP and NP viruses. Also show that vector feeding experience influences their choice and settlement on new hosts, as well as the fact that a prolonged period of drought allows that plants are more susceptible to expressing symptoms and attracting new vectors. These factors can be considered when establishing new practices for managing and prevent future PVV epidemics.

Keywords: Horizontal transmission, vector behavior, Hemiptera, outbreak, plant virus.

3. Tabla de contenido

1. RESUMEN.....	IX
2. ABSTRACT	XII
3. TABLA DE CONTENIDO.....	XV
4. LISTA DE FIGURAS.....	19
5. INTRODUCCIÓN.....	21
5.1 MARCO TEÓRICO.....	21
5.2 LAS INTERACCIONES INSECTO-PLANTA Y LOS MECANISMOS DE TRASMISIÓN	22
5.3 SISTEMA DE ESTUDIO	24
5.4 LA PLANTA DE PAPA.....	26
5.5 EL VIRUS DEL AMARILLAMIENTO DE LAS VENAS DE LA PAPA.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
5.6 LA MOSCA BLANCA DE LOS INVERNADEROS.....	28
5.7 LOS FACTORES ABIÓTICOS	29
5.8 JUSTIFICACIÓN	30
6. HIPÓTESIS	32
7. OBJETIVOS	35
7.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
8. MATERIALES Y MÉTODOS	36
8.1 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA EXPRESIÓN DE LOS SÍNTOMAS ASOCIADOS AL POTATO YELLOW VEIN DISEASE (PYVD) SOBRE LOS PARÁMETROS DE DESARROLLO DEL VECTOR MBI.....	36
8.1.1 RESUMEN GRÁFICO DE LA METODOLOGÍA DEL OBJETIVO 1	38

XVI El papel de la expresión de síntomas del *Potato yellow vein virus* (PYVV) en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)

8.2	EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA EXPRESIÓN DE LOS SÍNTOMAS ASOCIADOS AL POTATO YELLOW VEIN DISEASE (PYVD) SOBRE EL COMPORTAMIENTO DE SELECCIÓN DE HOSPEDERO DE MBI.	38
8.2.1	RESUMEN GRÁFICO DE LA METODOLOGÍA DEL OBJETIVO 2.....	40
8.3	EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA TEMPERATURA Y EL DÉFICIT HÍDRICO SOBRE LA EXPRESIÓN DE SÍNTOMAS EN PLANTAS DE PAPA CRIOLLA INFECTADAS CON PYVV.	40
8.3.1	RESUMEN GRÁFICO DE LA METODOLOGÍA DEL OBJETIVO 3.....	42
8.4	ANÁLISIS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR.....	42
8.4.1	EXTRACCIÓN DE RNA.....	42
8.4.2	DETECCIÓN DE RT-PCR.....	43
8.4.3	DETERMINACIÓN DE LA INTEGRIDAD DE LOS EXTRACTOS DE RNA.....	43
8.5	ANÁLISIS DE LOS DATOS	44
8.5.1	EFFECTO DE LA EXPRESIÓN DE LOS SÍNTOMAS ASOCIADOS AL POTATO YELLOW VEIN DISEASE (PYVD) SOBRE LOS PARÁMETROS BIOLÓGICOS DE LA MBI	44
8.5.2	EFFECTO DE LA EXPRESIÓN DE LOS SÍNTOMAS ASOCIADOS AL POTATO YELLOW VEIN DISEASE (PYVD) SOBRE EL COMPORTAMIENTO DE MBI	45
8.5.3	EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y EL DÉFICIT HÍDRICO SOBRE LA EXPRESIÓN DE SÍNTOMAS DE PYVV EN PLANTAS DE PAPA CRIOLLA.	45
9.	RESULTADOS.....	46
9.1	EFFECTO DE LA EXPRESIÓN DE SÍNTOMAS DE PYVD EN PLANTAS DE PAPA SOBRE LA SOBREVIVENCIA Y LA TASA DE DESARROLLO DE LA MBI.....	46
9.1.1	IDENTIFICACIÓN DE SÍNTOMAS Y PLANTAS INFECTADAS.....	46
9.2	EFFECTO DE LA EXPRESIÓN DE SÍNTOMAS SOBRE LA TASA DE DESARROLLO DE LA MBI	48
9.3	EFFECTO DE LA EXPRESIÓN DE SÍNTOMAS DE PYVD EN PLANTAS DE PAPA SOBRE EL COMPORTAMIENTO DE MBI	49
9.4	PREFERENCIA DE MBI LIBRE DE VIRUS	49
9.5	PREFERENCIA DE MBI ALIMENTADOS PREVIAMENTE CON PLANTAS INFECTADAS CON PYVV	50
9.6	EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y EL DÉFICIT HÍDRICO EN PLANTAS DE PAPA SOBRE LA EXPRESIÓN DE SÍNTOMAS DE PYVD Y REPLICACIÓN DE PYVV.	52
9.6.1	CORRELACIÓN ENTRE LOS FACTORES ABIÓTICOS DE TEMPERATURA Y DÉFICIT HÍDRICO CON LA APARICIÓN DE SÍNTOMAS.....	52
9.6.2	CUANTIFICACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL VIRUS BAJO LOS PARÁMETROS DE ESTRÉS ABIÓTICO.....	55
10.	DISCUSIÓN	57
10.1	EFFECTO DEL ESTADO SANITARIO DEL HOSPEDERO SOBRE LA TASA DE DESARROLLO DEL VECTOR	57
10.2	EFFECTO DEL ESTADO SANITARIO DEL HOSPEDERO SOBRE EL COMPORTAMIENTO DEL VECTOR	59

10.3	EFFECTO DE LOS FACTORES ABIÓTICOS SOBRE LA EXPRESIÓN DE SÍNTOMAS Y PRESENCIA DE PYVV EN PLANTAS DE PAPA.....	62
10.4	CONSIDERACIONES FINALES	65
11.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	67
11.1	CONCLUSIONES	67
11.2	RECOMENDACIONES	68
12.	BIBLIOGRAFÍA.....	73

4. Lista de figuras

Figura N°	Pg.
Figura 1. Diagrama modificado de transmisión horizontal en sistemas semi-persistentes no circulativos bajo el sistema PYVV-MBI-Papa criolla (Zhou et al. 2018).	33
Figura 2. Planta de papa con síntomas típicos de PYVD en campo: amarillamiento intravenal de venas secundarias e inervenal de venas primarias.	37
Figura 3. Diagrama de montaje de ensayo de libre elección en el que se ilustra la disposición de las hojas.	39
Figura 4. Síntomas generados por PYVD en campo. A) Síntomas de planta con folíolos con evidentes síntomas de la enfermedad en campo. B) Folíolo con características evidentes de la enfermedad. C) Folíolo de papa afectado con síntomas bajo	46
Figura 5. Detección molecular por el método RT-PCR para la expresión del gen PYVV y β -tubulina en gel de agarosa al 1%.	47
Figura 6. Magnitud de las diferencia entre tasas de sobrevivencia de MBI en plantas de papa criolla sanas, sintomáticas y asintomáticas en condiciones ambientales controladas.	48
Figura 7. Tiempo medio de cambio a la edad adulta en estado MBI alimentado por plantas sanas, sintomáticas y asintomáticas en condiciones controladas. Las líneas solidas representan el tiempo promedio en días en el que el 50% de los adultos emergieron y las líneas punteadas los respectivos errores estándar.	49
Figura 8. Preferencia de MBI sin contacto previo con PYVV. El color amarillo indica plantas infectadas sintomáticas, el verde claro asintomáticas y el verde oscuro libres de virus (sanas).	50
Figura 9. Preferencia de MBI con contacto previo con PYVV. El color amarillo indica plantas infectadas sintomáticas, el verde claro asintomáticas y el verde oscuro libres de virus (sanas).	52
Figura 10. Efecto del estado hídrico sobre la expresión de síntomas de PYVD en plantas de papa criolla. 11A) Planta sana sin déficit hídrico. B) Planta sana con déficit hídrico. C) Planta infectada sin déficit hídrico. D) Planta infectada con déficit hídrico.	54
Figura 11. Resultados de qPCR para evaluar la expresión relativa del gen de la proteína de la cápside virus bajo condiciones de temperatura y déficit hídrico controladas. Las barras de error corresponden a la desviación estándar.	56
Figura 12. Anomalía de la lluvia acumulada trimestral, respecto al promedio acumulado trimestral histórico (1981-2010). (Positiva o arriba de lo normal colores azules, negativa o por debajo de lo esperado en amarillo y condición normal en blanco) (IDEAM, 2014). ...	64

20 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus (PYVV)* en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)

Figura 13. Anomalía de la lluvia del mes de Julio, respecto al promedio histórico (1981-2010). (Positiva o arriba de lo normal colores azules, negativa o por debajo de lo esperado en amarillo y condición normal en blanco)(IDEAM, 2014). 65

5. Introducción

5.1 Marco Teórico

Los virus fitopatógenos con frecuencia modulan las interacciones entre los insectos y las plantas (Fraile and García-Arenal 2016). En particular, aquellos que son transmitidos por insectos pueden cambiar la fisiología y morfología de su planta hospedera para manipular el comportamiento de los vectores. Tales cambios incluyen alteraciones en color, textura, y forma de partes de las plantas infectadas, así como modificaciones en la producción de volátiles, y/o metabolitos secundarios (Casteel et al. 2014; Wang and Zhou 2016; Mauck et al. 2018). Por ejemplo, algunos vectores pueden cambiar sus hábitos alimenticios, o el tiempo que duran alimentándose de la planta infectada, como consecuencia de la expresión de los síntomas de las enfermedades causadas por los virus que éstos transmiten. Como tal, el comportamiento del insecto vector durante la alimentación y desplazamiento (dispersando el virus) en respuesta a las señales de las plantas infectadas, determina la probabilidad de que los viriones sean adquiridos, retenidos y dispersados a otras plantas bajo un escenario de transmisión horizontal (Ferreles and Moreno 2009). Diversos estudios han evidenciado que la manipulación del comportamiento de los insectos vectores por parte de los virus vegetales es una adaptación común (Palacios et al. 2002; Mauck et al. 2012, 2018; Casteel and Jander 2013; Casteel et al. 2014; Fereres 2015; Ng and Zhou 2015; Mauck 2016; Bak et al. 2017). A esta hipótesis se le conoce como "hipótesis de la manipulación adaptativa del huésped" (H. Jane Brockmann, Timothy J. Roper, Marc Naguib, Katherine E. Wynne-Edwards 2010).

- 22 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus (PYVV)* en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)
-

El papel de la expresión de los síntomas en la manipulación de vectores cobra mayor relevancia en sistemas en los que es posible la transmisión horizontal y vertical. La expresión de síntomas en una planta infectada puede darse como consecuencia de los daños directos causados por un agente patógeno, y/o de la respuesta de defensa de la planta para combatir la infección. Sin embargo, la cascada de eventos asociada a la expresión de síntomas con frecuencia responde a la estrategia de transmisión de un patógeno (i.e., horizontal o verticalmente). De hecho, en ciertos sistemas, se han reportado plantas infectadas asintomáticas, con concentraciones de virus iguales o superiores a las sintomáticas, lo que aparentemente favorece la transmisión vertical, sin producir efectos sobre la planta o el vector (Fereres and Moreno 2009; Hernandez and Guzmán-barney 2012; Casteel et al. 2014; Rajabaskar et al. 2014; Fereres et al. 2016; Mascia and Gallitelli 2016; Eigenbrode et al. 2018). Esto sugiere que dentro de los múltiples factores que los virus podrían mediar la expresión de los síntomas en su hospedero como lo son las características genéticas de la planta y su desarrollo fenológico, la genética de los virus y expresión temprana o tardía de los genes de este y la carga viral en la planta, también puede ser con el fin de favorecer un tipo de transmisión (vertical u horizontal) que ofrezca una mayor garantía de éxito en determinadas condiciones (H. Jane Brockmann, Timothy J. Roper, Marc Naguib, Katherine E. Wynne-Edwards 2010).

5.2 Las interacciones insecto-planta y los mecanismos de transmisión

Los virus pueden modificar las interacciones entre plantas y vectores de diferentes maneras, dependiendo de los mecanismos de transmisión. Se reconocen tres mecanismos de transmisión en virus vegetales: persistente, semi-persistente y no persistente. La transmisión persistente (TP) requiere de la alimentación sostenida por parte del vector para asegurar que el virus pueda ingresar a través de sus partes bucales, establecerse en su intestino, y replicarse, para luego ser transmitido a una nueva planta durante un nuevo evento de alimentación. Algunos de estos son capaces de atravesar el sistema digestivo del vector y replicarse dentro de él por días, por lo que también se les da el nombre de virus circulativos. Los virus que tienen TP, por lo general, favorecen la calidad nutricional

de las plantas infectadas con el fin de estimular la alimentación continuada de los vectores (Mauck et al. 2012).

La transmisión no persistente (TNP) no necesita de alimentación prolongada por parte del vector debido a que los viriones se adquieren durante breves episodios de alimentación de los tejidos superficiales de la hoja y se pueden perder de las piezas bucales si el vector comienza la alimentación a largo plazo o por la poca interacción de las proteínas receptoras que se encuentran dentro de las piezas bucales del insecto. En muchas ocasiones, el virus solo llega al aparato bucal del vector, saliendo rápidamente de él, permaneciendo solamente por minutos o un par de horas, por lo que la calidad nutricional de la planta puede ser deficiente, evidenciando clorosis y otras deficiencias nutricionales. De hecho, se ha documentado evidencia suficiente que indica que los virus con TNP provocan cambios en la fisiología de las plantas que se traducen en cambios en apariencia y diferentes grados de reducción en la calidad nutricional de la planta hospedera (Mauck et al. 2012). Esto, en términos de las interacciones planta-insecto, con frecuencia incrementa la atracción al vector, una reducción en el tiempo de permanencia en un solo hospedero y una dispersión de los vectores buscando mejores hospederos para dar paso a su siguiente generación (Bosque-Pérez and Eigenbrode 2011; Casteel and Jander 2013; Mauck et al. 2014; Rajabaskar et al. 2014).

La transmisión semi-persistente (TSP) se define como un mecanismo intermedio entre la TP y TNP, en el cual hay periodos de alimentación más prolongados y los viriones pueden llegar a retenerse en la parte anterior del intestino del vector y durar dentro de este desde algunas horas hasta días (Mauck et al. 2012). Sin embargo, los virus que presentan este mecanismo no pueden circular ni de replicarse dentro del insecto vector. Aunque estos virus comparten características de los virus persistentes y no persistentes, en diversos estudios se ha evidenciado que su complejidad va más allá de ser un mecanismo intermedio (Ng and Falk 2006; Liu et al. 2013; Wang et al. 2017; Chen et al. 2018; Mauck et al. 2018; Wei et al. 2018; Szczepaniec and Finke 2019).

El efecto que puedan causar los síntomas de las plantas debido a una infección causado por patógenos puede ser inducido por otros factores más allá de los implicados en el éxito propagativo de planta a planta de estos patógenos obligados. Se ha evidenciado en diferentes patosistemas que los factores abióticos pueden jugar un rol importante en la

- 24 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus* (PYVV) en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)
-

aparición de síntomas. Por ejemplo, en el sistema relacionado con la enfermedad de la piricularia, se ha evidenciado que el estrés hídrico provoca un estado de inmunosupresión de las plantas de arroz, lo que con frecuencia favorece la expresión de la enfermedad (Bidzinski et al. 2016).

El cambio climático ha provocado episodios de sequías y cambios bruscos de temperatura a escala mundial, afectando la agricultura (Boyer 2010). Pero este impacto no solamente se ve reflejado en un estrés por déficit hídrico pensado en el rendimiento potencial de los cultivos. El estrés hídrico aparentemente causa cambios profundos del metabolismo de las plantas, que se traducen en alteraciones en la producción de fitohormonas y de metabolitos secundarios. Estas alteraciones con frecuencia afectan la capacidad de las plantas para defenderse de insectos y patógenos (Shao et al. 2008; Davis et al. 2015; Chesnais et al. 2019).

La comprensión de las interacciones de un sistema de cuatro partes (Ambiente, Planta, Vector y Patógeno) exige un enfoque integral para el diseño de programas de manejo integrado sostenibles. Sin embargo, son pocos los estudios que miden las respuestas de las plantas a múltiples estreses, los mecanismos moleculares de dichas interacciones, y el impacto ecológico de estas respuestas sobre las interacciones planta-vector-patógeno.

5.3 Sistema de estudio

El sistema que se usó para llevar a cabo esta investigación está compuesto por: la planta de papa, *Solanum tuberosum* grupo Phureja, el *Potato yellow vein virus* (PYVV), y la mosca blanca de los invernaderos (MBI) *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae), el vector específico reportado de PYVV. El virus se puede transmitir verticalmente, a través de tubérculos semilla infectados, y horizontalmente por el vector (Jia et al. 2018), de manera semi-persistente (Salazar et al. 2000). El PYVV genera epidemias esporádicas, presumiblemente facilitadas por eventos climáticos, las cuales pueden generar pérdidas regionales de hasta el 50% (Rincon et al. 2019).

El sistema PYVV- MBI – Papa es ideal para estudiar la transmisión semi-persistente. En primer lugar, el vector, la MBI, es un insecto ampliamente estudiado y relacionado con sistemas TSP. Además, el PYVV representa una limitante importante para la producción de papa en el norte de Suramérica. Este estudio busca explorar los factores asociados a la expresión de los síntomas de la enfermedad causada por PYVV (PYVD), especialmente aquellos relacionados con eficiencia de MBI como un vector PYVV, y los factores abióticos que pueden modular la expresión de estos síntomas. A continuación, se hace una descripción más detallada del sistema de estudio.

- 26 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus* (PYVV) en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)
-

5.4 La planta de papa

La papa es el cuarto cultivo alimenticio más importante del mundo, después del maíz, el arroz y el trigo (FAOSTAT, 2019). *Solanum tuberosum* Grupo Phureja, también llamada papa criolla, es un grupo de papas precoces, cuyos tubérculos no tienen periodo de reposo, por lo que es posible establecer ciclos agronómicos completos tres o cuatro veces al año (Hernandez and Guzmán-barney 2012). *S. tuberosum* Grupo Phureja se cultiva principalmente en la parte oriental de los Andes, entre los 2000 – 3400 msnm. Su distribución geográfica se extiende desde el noroeste de Bolivia, por toda la región oriental de los Andes peruanos, hasta Colombia y parte de Venezuela. *S. tuberosum* grupo Phureja se diferencia de las demás papas por ser una especie diploide ($2n=24$). El grupo Phureja es clasificado en un taxón separado debido a que, a diferencia del grupo Andígena, presenta genes asociados a la disminución de la dormancia en el tubérculo, el cual es un carácter dominante y marcado en la generación F1 (Sukhotu et al. 2006). El grupo Phureja está compuesto por una gran cantidad de ecotipos que no se han sometido a selección natural, por lo que pueden presentarse alelos silvestres con potencial para la producción de papas diferenciales. También se le conoce por su precocidad en la producción de tubérculos y, en la actualidad, representa entre el 9% y 11% del área total de papa sembrada en el país (Piñeros 2009)(Agronet 2020).

Según Rivera et al. (2003), la calidad de los tubérculos de papa criolla no solo depende del manejo cultural del cultivo, sino de condiciones ambientales como el microclima, la altitud, la radiación solar y la luminosidad de los ecosistemas donde se produce. Según registros de la Cadena Nacional de la Papa, en el año 2017 se cultivaron en Colombia alrededor de 8460 hectáreas de papa, con un rendimiento promedio de 15,25ton/ha (Agronet, 2020). La papa criolla es, sin embargo, más susceptible a reducciones en el rendimiento debido a que este cultivo es más susceptible a las heladas, y problemas fitosanitarios, además de presentar una alta perecebilidad post-cosecha debido a que sus tubérculos no presentan dormancia (Piñeros 2009).

5.5 *Potato yellow vein virus – PYVV*

El virus del amarillamiento de la papa o *Potato yellow vein virus (PYVV)* es clasificado como un *Crinivirus (Closteroviridae)*, género que incluye varios virus de plantas transmitidos por especies de mosca blanca. Los Crinivirus contienen genomas segmentados o tripartito, haciendo que su replicación en la célula vegetal sea más eficiente y tenga menor riesgo de ser detenida por mecanismos de defensa activados por el hospedero (Martelli et al. 2002; Tzanetakis et al. 2013).

PYVD fue reportada por primera vez en Ecuador en 1943. Posteriormente, se detectó en Venezuela y Colombia (Salazar et al. 2000) y, más recientemente, en Perú (Salazar, 2006). En Colombia, PYVD solía considerarse una enfermedad con una capacidad moderada de causar daños, hasta principios del siglo XXI, cuando se empezaron a reportar pérdidas significativas en regiones enteras. En 2014, el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) declaró una emergencia sanitaria como resultado del incremento de la incidencia de PYVD en las cuatro de las zonas con mayor producción de papa en Colombia. A diferencia de otros Crinivirus, la transmisión de PYVV puede realizarse de forma horizontal, a través de MBI, o verticalmente, a través de propágulos vegetativos tales como tubérculos de semillas infectados (Salazar et al. 2000). Aparentemente, el transporte de tubérculos infectados es el mayor factor de contagio a escala regional, mientras que el vector parece tener un papel relevante en la transmisión dentro de lotes y entre lotes cercanos (Cuadros et al. 2017). La reaparición de PYVV en Colombia es parte de una emergencia mundial de Crinivirus la cual se han asociado con el brote de poblaciones de mosca blanca en áreas donde no ocurren regular o persistentemente (Tzanetakis et al. 2013).

Existen estudios que evidencian que la susceptibilidad a PYVV no es igual en todas las variedades de papa, siendo la papa criolla una de las *Solanum tuberosum* más susceptibles (Arciniegas y Guzman, 2003) con hasta 105 accesiones susceptibles de la COLECCIÓN CENTRAL COLOMBIANA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA (Vargas et al. 2010). En las últimas cuatro décadas, se han realizado investigaciones relacionadas con la búsqueda de resistencia de las variedades del material vegetal al PYVV (Arciniegas y Guzman 2003; Hernández and Guzmán-Barney 2012) donde se encontraron accesiones con mayor resistencia, diversas técnicas de identificación del virus (Arciniegas and Guzman 2003; Guzmán-barney et al. 2012; Franco-

- 28 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus* (PYVV) en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)
-

Lara and Rodríguez 2013; Osorio et al. 2016) donde se estandarizaron las técnicas de diagnóstico del virus y las partes más afectadas en las plantas y la detección temprana del virus (Chávez et al. 2009) donde se evidenciaron las ventajas del uso de sensores remotos para detectar el virus en su etapa temprana.

Los síntomas de la enfermedad en plantas de papa criolla presentan un desarrollo primario y uno secundario. Los síntomas de desarrollo primario se dan mediante una clorosis de las nervaduras secundarias y terciarias de las hojas del tercio superior de las plantas de papa. Usualmente, estos síntomas se dan en el borde de las hojas y se va extendiendo hasta el interior, siempre más notable en el envés de estas. Un desarrollo secundario de los síntomas se da por la aparición de puntos cloróticos provenientes de plantas cuyo tubérculo madre estaba infectado, cuando la enfermedad ha avanzado estos puntos pueden unirse con los síntomas producidos en un desarrollo primario (Salazar et al. 2000; Arciniegas y Guzman 2003; Vargas et al. 2010; Hernandez y Guzmán-Barney 2012; Franco-Lara 2015). A pesar de que usualmente las plantas sintomáticas tienen un resultado positivo en las pruebas de diagnóstico molecular, no todas las plantas infectadas expresan los síntomas. Esto tiene una implicación epidemiológica y económica, ya que es la expresión de los síntomas la que realmente tiene un efecto en la disponibilidad nutricional de la planta para formar tubérculos de mayor calidad (Guzman-Barney et al. 2012).

5.6 La mosca blanca de los invernaderos

La mosca blanca de los invernaderos (MBI) *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) es el único vector reportado de PYVV (Salazar et al. 2000). Su establecimiento dentro de los cultivos de papa depende de varios factores, sin embargo, al ser poiquiloterms la temperatura es el factor que ejerce mayor efecto sobre diferentes características como la distribución geográfica, el metabolismo, el desarrollo, la reproducción y el comportamiento (Rendon et al. 2001). Byrne y Bellows (1991) evidenciaron que existe una estrecha relación entre la temperatura y el crecimiento de las poblaciones de mosca blanca, ya que condiciona los parámetros de vida de los estados inmaduros y el vuelo de los adultos. Además, la amplia gama de temperaturas en la que

se desarrolla la plaga puede ser usada para determinar las regiones en las que la plaga podría establecerse.

Teniendo en cuenta que el desarrollo de la MBI es óptimo entre 15-25 ° C, el insecto podría establecerse fácilmente en gran parte de la región de mayor área de siembra de papa en Colombia (D N Byrne and and T S Bellows 1991). Sin embargo, la MBI, no se considera una plaga importante en cultivos de papa. En los últimos años, se ha observado un incremento considerable de sus poblaciones en cultivos en regiones donde el PYVD está presente, aunque aparentemente el efecto de este insecto sobre el rendimiento de los cultivos no es significativo en ausencia de PYVV (Rincon et al. 2019). Las relaciones causales entre el incremento de las poblaciones de MBI en papa y la reemergente epidemia de PYVD no han sido estudiadas, pero se ha encontrado que las épocas de sequía durante el ciclo del cultivo de papa favorecen el incremento de la población de mosca blanca y por tanto la diseminación de la enfermedad (Salazar et al. 2000). Su esclarecimiento podría ser útil para orientar planes para el manejo, ya que en otros sistemas se ha evidenciado cómo el virus puede manipular el comportamiento de su vector e influenciar sus dinámicas temporales y espaciales (Mauck et al. 2012).

5.7 Los factores abióticos

Las plantas están sometidas constantemente a diversas formas de estrés biótico y abiótico durante su ciclo de vida. Debido a su condición sésil, estas deben ser capaces de responder de manera particularmente dinámica, rápida y eficiente. En un contexto de cambio climático, el estrés abiótico por déficit hídrico es una de las limitantes más comunes para el crecimiento y desarrollo de las plantas (Skansi et al. 2013, Fernandez et al. 2013). La conjunción de factores de estrés bióticos y abióticos como déficit hídrico y las enfermedades transmitidas por vectores conllevan a interacciones directas e indirectas entre las plantas, los patógenos y los vectores que pueden producir cambios en la fisiología y el comportamiento de estos. En el sistema de PYVD, se ha evidenciado que las poblaciones de MBI por sí solas no pueden explicar por completo el alcance de la epidemia de PYVV, debido a la pobre asociación espacial entre la expresión de síntomas asociados a PYVV y la presencia de MBI (Cuadros et al. 2017). Por esto, se hace necesario investigar factores alternativos que expliquen la aparición de síntomas durante la epidemia de PYVD en cultivos de papa.

- 30 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus* (PYVV) en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)
-

Durante el 2014, año en el que se decretó la emergencia fitosanitaria por cuenta de una epidemia de PYVV, se dieron condiciones ambientales en las principales localidades productoras de papa que, al parecer, favorecieron la aparición y la dispersión de PYVD. Basados en los datos del Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales de Colombia (IDEAM), se encontró que el año 2014 fue un año enmarcado climatológicamente por un efecto niño, el cual se caracteriza por sequías prolongadas y temperaturas por encima de la media. Sin embargo, a la fecha no se cuenta con evidencia que sustente una relación causal entre condiciones de sequía y el incremento en la expresión de síntomas de PYVD y su dispersión.

5.8 Justificación

La construcción de teoría relacionada con las interacciones virus-hospedero-vector permite generar predicciones que pueden ser útiles para la elaboración de programas de manejo integrado de plagas y enfermedades o estrategias de intervención óptimas para controlar epidemias. En particular, los virus con TSP están pobremente caracterizados con respecto a los efectos de la infección sobre la ecología de los vectores. Estos virus, sin embargo, son abundantes y extremadamente importantes desde una perspectiva económica. Un ejemplo de ellos son los Closterovirus que han aumentado su presencia en los últimos años en cultivos como papa, tomate, lechuga, entre otros, dejando pérdidas de rendimiento equivalentes a dos millones de dólares (Alves et al. 1998; H. Jane Brockmann, Timothy J. Roper, Marc Naguib, Katherine E. Wynne-Edwards 2010; Hanssen and Lapidot 2012; Hernandez and Guzmán-Barney 2012; Rojas et al. 2018). El tiempo en el que los vectores son infectivos puede ser desde días a semanas, haciendo que la reducción de poblaciones de los vectores mediante tratamientos químicos sea generalmente ineficaz para controlar las epidemias ya tendrían que eliminarse todos los insectos en todas sus etapas de desarrollo y en un periodo corto de tiempo, haciéndolo insustentable e insostenible.

Asimismo, la comprensión del rol de los efectos de los virus en las plantas sobre la ecología de los insectos vectores puede ser útil para comparar y contrastar las adaptaciones clave asociadas a modalidades de transmisión que no impliquen vectores (i.e., transmisión vertical o transmisión mecánica). Este estudio tiene como foco entender el efecto que tiene la expresión de los síntomas como estrategia de los virus de TSP para transmitirse y permanecer en el ambiente; así como realizar un acercamiento a algunos de los factores abióticos que inducen la expresión de síntomas en el hospedero. Al final, este trabajo pretende dar conocimiento que permita avanzar en investigaciones de estrategias de manejo agronómico más eficientes.

- 32 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus* (PYVV) en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)
-

6. Hipótesis

La hipótesis del presente trabajo se deriva del modelo teórico que describe los patrones óptimos del comportamiento del vector que favorecen la transmisión horizontal de los virus entre plantas. El modelo de transmisión horizontal mediada por vectores que usé fue descrito originalmente por Mauck et al. (2012) y caracteriza los patrones de comportamiento de vectores, con base en su relación con las plantas hospederas sanas e infectadas. Este modelo explica que, para que se produzca una transmisión horizontal efectiva, se deben cumplir tres características: atracción, retención y dispersión (Figura 1).

Para que la transmisión horizontal ocurra, el vector debe verse atraído hacia el hospedero infectado ya sea por estímulos fitoquímicos (como lo son moléculas orgánicas volátiles), o por señales visuales (como lo son cambios en la coloración de las hojas). Una vez el vector ha sido atraído hacia el hospedero infectado, se produce una interacción vector-planta causada por la necesidad del vector de alimentarse. Durante la alimentación, el vector adquiere el virus de las plantas infectadas y lo trasmite a plantas sanas. Este proceso tiene una duración que depende de la modalidad de trasmisión. En sistemas en con modalidad de TNP, la alimentación en plantas infectadas generalmente dura unos minutos, mientras que en sistemas con TSP y TP, la alimentación de los vectores debe sostenerse por una mayor cantidad de tiempo para que la adquisición del virus sea efectiva.

Después de que el vector adquiere el patógeno, el movimiento del virus entre plantas infectadas y sanas está generalmente mediado por el estado nutricional de las plantas. Incluso, con frecuencia se presentan cambios en la fisiología de los vectores que favorecen la dispersión del virus a plantas sanas. Sin embargo, en general, el tiempo que invierten los insectos alimentándose de una determinada planta es directamente proporcional a la calidad nutricional de la misma. Por ejemplo, si un virus tiene una TP, el modelo propuesto por Mauck predice que los vectores preferirán asentarse en plantas infectadas, mientras que los virus con TNP tendrían una menor preferencia de alimentación o asentamiento en las plantas infectadas que las plantas sanas. También que los virus con TP aumentarán la calidad del hospedero para los vectores, lo que resulta en una mayor sobrevivencia,

fecundidad o longevidad de estos. En contraste, los virus con TNP disminuirán o no tendrán ningún efecto sobre la calidad del hospedero.

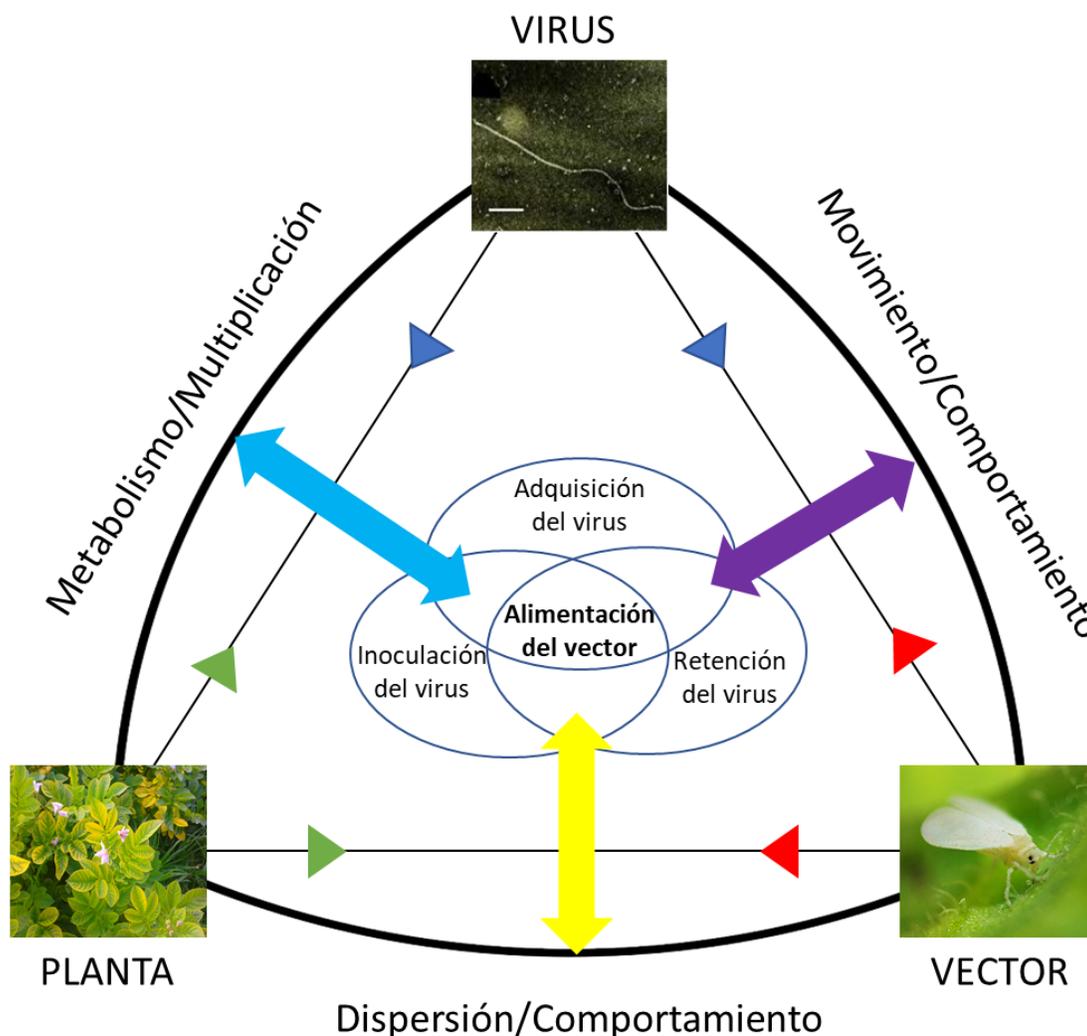


Figura 1. Diagrama modificado de transmisión horizontal en sistemas semi-persistentes no circulatorios bajo el sistema PYVV-MBI-Papa criolla (Zhou et al. 2018). Los virus logran la transmisión al interactuar directamente con sus insectos vectores y beneficiarse de sus comportamientos / actividades de alimentación a través de tres procesos interrelacionados: adquisición, retención e inoculación (representados por tres círculos superpuestos). El virus (azul), el vector (rojo) y la planta (verde) experimentan interacciones bilaterales (representadas por las dos puntas de flecha, codificadas por colores para que coincidan con las parejas que interactúan, enfrentadas en los tres lados del triángulo) e interacciones trilaterales que involucran los tres socios (representados por todo el triángulo) para influir en varios aspectos de los procesos de transmisión (representados por las flechas cian, doradas y moradas dirigidas a los puntos de intersección de los tres círculos superpuestos). Las interacciones bilaterales y trilaterales también pueden desencadenar señales de plantas y/o respuestas de vectores que influyen indirectamente en la

- 34 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus (PYVV)* en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)
-

transmisión del virus al provocar respuestas de vectores específicos, es decir, atracción, disuasión y dispersión (indicado fuera del triángulo). Las respuestas específicas de resistencia / defensa de la planta desencadenadas por virus y / o vectores también pueden influir indirectamente en la transmisión del virus al atacar / inhibir el virus y / o el vector (indicado como "otros" fuera del triángulo).

La hipótesis de la investigación asume que el sistema papa-PYVV-MBI presenta los comportamientos óptimos descritos en el modelo teórico propuesto por Mauck et al. (2012) (Figura 1). Dado que el sistema papa-PYVV-MBI tiene transmisión vertical y horizontal y que la infección de PYVV no siempre expresa síntomas. En consecuencia, **la hipótesis del presente trabajo es que la expresión de síntomas de la infección de PYVV en plantas de papa es un mecanismo para incrementar la tasa de transmisión horizontal.** Bajo el supuesto de que PYVV es un virus semi-persistente se plantearon las siguientes predicciones:

1. Las plantas de papa infectadas con PYVV sintomáticas presentarán una baja calidad nutricional para la MBI, lo que reducirá la tasa de desarrollo de los individuos que se alimenten de plantas infectadas.
2. Las plantas de papa infectadas con PYVV y que presentan síntomas serán más atractivas para la MBI que las plantas infectadas sin síntomas o sin infección de PYVV.

Por otro lado, bajo los supuestos de que la lluvia reduce la incidencia de la MBI en el campo (Bueno et al. 2005) y que la MBI y la transmisión horizontal de PYVV raramente ocurren por encima de los 2800 msnm donde las temperaturas varían de los 12 a los 20 ° C (D N Byrne and T S Bellows 1991; Gotz et al. 2012; Cuadros et al. 2017), mi última predicción es:

3. El estrés asociado a la temperatura y el déficit hídrico en plantas de papa infectadas con PYVV favorecerá la expresión de síntomas lo que promoverá indirectamente la transmisión horizontal del virus.

7. Objetivos

7.1 Objetivo general

Determinar el papel de la expresión de los síntomas por la infección de PYVV en plantas de papa sobre la interacción entre la planta de papa criolla, *Solanum tuberosum* grupo Phureja cv. "criolla Colombia", y el vector del virus, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae).

7.2 Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto de la expresión de los síntomas asociados al Potato yellow vein disease (PYVD) sobre los parámetros biológicos de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae).
2. Evaluar el efecto de la expresión de los síntomas asociados al Potato yellow vein disease (PYVD) sobre el comportamiento de selección de hospedero de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae).
3. Evaluar el efecto de la temperatura y el déficit hídrico sobre la expresión de síntomas en plantas de papa criolla (*Solanum tuberosum* grupo Phureja) infectadas con *Potato yellow vein virus* (PYVV).

36 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus* (PYVV) en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)

8. Materiales y métodos

8.1 Evaluación del efecto de la expresión de los síntomas asociados al Potato yellow vein disease (PYVD) sobre los parámetros de desarrollo del vector MBI

Con el objetivo de determinar el efecto de la expresión de los síntomas asociados a la enfermedad causada por PYVV (PYVD) sobre la sobrevivencia y la longevidad de MBI, se llevó a cabo un experimento con parámetros controlados de temperatura (16° C), humedad relativa (65%), luz (4 Lux) y fotoperiodo (12 horas día/ 12 horas noche). El experimento se realizó en el laboratorio de entomología de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria AGROSAVIA, en Mosquera, Cundinamarca.

Se distribuyeron 24 plantas de papa *S. tuberosum* grupo Phureja cv. “criolla Colombia” en tres diferentes cámaras climáticas (Sanyo® modelo MLR-351), en un diseño completamente al azar (ocho plantas por cámara). Se dispusieron plantas en tres estados: plantas libres de virus, plantas asintomáticas pero infectadas con PYVV y plantas sintomáticas infectadas con PYVV.

Las plantas libres de virus se obtuvieron mediante el uso de tubérculos-semilla libres de virus, los cuales fueron obtenidos de cultivos *in vitro* del Centro de investigación Tibaitatá de AGROSAVIA y a los que se les realizaron pruebas de RT-PCR antes del experimento para confirmar que estuvieran libres de virus. Los tubérculos-semilla libres de virus se plantaron en un sustrato de cáscara de arroz y suelo en una proporción de 3:1 en macetas No. 16 (5.5 libras aproximadamente). Se realizó una única fertilización con 50 gramos de NPK (15-15-15) y se regaron cada tercer día hasta obtener capacidad de campo. Las plantas se cultivaron en condiciones de invernadero dentro de una jaula de malla para evitar los insectos vectores que podrían transmitir el virus entraran en ella hasta la cuarta semana después de siembra (código 105 en escala BBCH (CFIBAS, 2001) para después pasar a las cámaras climáticas.

Las plantas infectadas se obtuvieron de plantas donantes. Para esto plantas infectadas con síntomas del virus se recolectaron de cultivos en el municipio de Subachoque (Cundinamarca, Colombia) (Loc: 4.978093N, -74.155993O) (Figura 1). Para confirmar la presencia del virus en las plantas, se realizó RT-PCR según el protocolo propuesto por Hernández y Guzmán (2012). Las plantas infectadas fueron llevadas al invernadero y utilizadas como plantas donantes para infectar plantas sanas de tres semanas de edad según el protocolo usado Vargas et al (2010) (Anexo 2), mediante MBI. Se realizó una única fertilización con 50 gramos de NPK (15-15-15) al momento de la siembra.



Figura 2. Planta de papa con síntomas típicos de PYVD en campo: amarillamiento intravenal de venas secundarias e intervenal de venas primarias.

Después de 15 días de haberse realizado el proceso de inoculación, se evidenciaron los síntomas del virus en las hojas del tercio superior de las plantas. De esta forma fueron seleccionadas las plantas infectadas con síntomas e infectadas asintomáticas.

Una vez instaladas las plantas en las cámaras, se liberaron de manera controlada en jaulas pinza, tres jaulas por planta, 10 parejas de adultos de MBI de 2.5 ± 1 días de emergidos sobre un foliolo de cada planta. Los individuos de MBI provenían de la cría de MBI de AGROSAVIA y fueron mantenidos en condiciones de invernadero ($22-35^{\circ} \text{C}$, 60-80% HR) y alimentados con plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), para evitar el contacto con un

- 38 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus (PYVV)* en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)

posible huésped de PYVV. En un tiempo de 48 horas después de haberse hecho la liberación, se retiraron los adultos de las jaulas pinza. Inmediatamente, se realizaron mediciones de monitoreo diario a cada uno de los folíolos evaluados, se tomaron las siguientes variables: número de individuos vivos, número de individuos muertos y estado de desarrollo (huevos, ninfas, adultos). El experimento tuvo una planeación de duración de 60 días o hasta que todos los estados inmaduros de MBI se convirtieran en adultos. Al finalizar los experimentos se realizaron pruebas de RT-PCR para el diagnóstico molecular de la presencia del virus en plantas.

8.1.1 Resumen gráfico de la metodología del objetivo 1



8.2 Evaluación del efecto de la expresión de los síntomas asociados al Potato yellow vein disease (PYVD) sobre el comportamiento de selección de hospedero de MBI.

Con el objetivo de determinar el efecto de la expresión de los síntomas asociados a PYVD sobre el comportamiento de selección de hospedero de MBI, se llevaron a cabo dos experimentos en un cuarto con condiciones ambientales controladas (16 ° C±1, 65-70%

HR) en el Centro de Investigación Tibaitatá de AGROSAVIA. En ambos experimentos, se permitió la libre elección de adultos de MBI a hojas compuestas de plantas sanas, sintomáticas y asintomáticas con solución nutritiva 1:1 para garantizar la turgencia de las mismas (variando la disposición de las hojas con 10 repeticiones cada uno) en jaulas de malla con dimensiones 1 m x 1 m x 0,8 m, equidistantes en una disposición triangular con una longitud de 30 cm a cada lado (Figura 2). En el centroide de la disposición triangular se liberaron diez adultos de MBI de 2.5 ± 1 días después de la emergencia. En el primer experimento se usaron adultos de MBI sin contacto previo con PYVV, por lo que estos fueron alimentados previamente con plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). En el segundo experimento, se usaron adultos de MBI con contacto previo con PYVV, por lo que estos fueron criados en plantas de frijol, y luego alimentados de folíolos de papa con síntomas de PYDV durante 48 horas. Durante el experimento se registró el número de adultos que se posó en cada folíolo de papa después de 30, 60, 120, 240 y 1440 minutos.

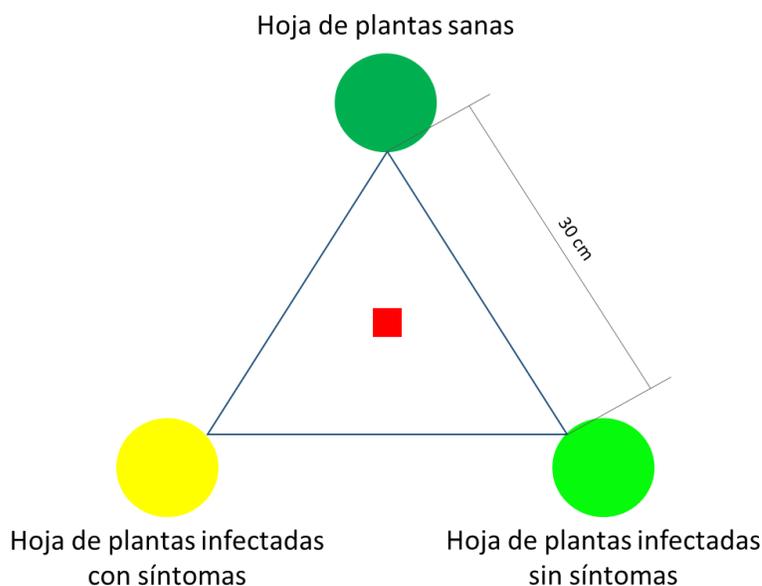
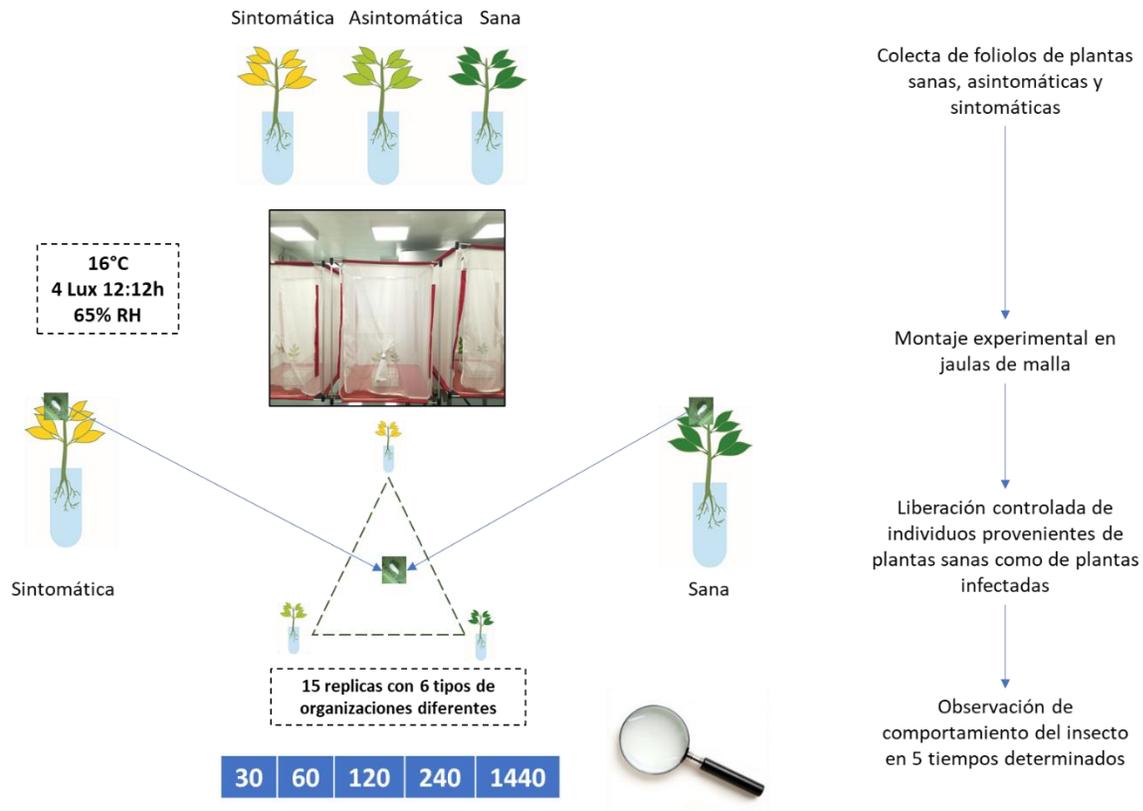


Figura 3. Diagrama de montaje de ensayo de libre elección de MBI para su alimentación, en el que se ilustra la disposición de las hojas

- 40 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus (PYVV)* en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)

8.2.1 Resumen gráfico de la metodología del objetivo 2



8.3 Evaluación del efecto de la temperatura y el déficit hídrico sobre la expresión de síntomas en plantas de papa criolla infectadas con PYVV.

Con el objetivo de evaluar el efecto de la temperatura y el déficit hídrico sobre la expresión de síntomas en plantas de papa criolla infectadas con PYVV, se realizaron experimentos con parámetros controlados de temperatura (16° C), humedad relativa (65%), luz (4 lux) y fotoperiodo (12 horas día/ 12 horas noche). Estos experimentos se realizaron en el

laboratorio de entomología de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria AGROSAVIA, en Mosquera, Cundinamarca.

Los experimentos se realizaron en tres diferentes cámaras climáticas (Sanyo® modelo MLR-351), una para cada temperatura evaluada (16 ° C, 18 ° C y 20 ° C), y en todos se mantuvieron condiciones ambientales controladas 4 lux, 55% HR y fotoperiodo (12 horas día/ 12 horas noche). En cada cámara se dispusieron 20 materas, diez materas con tubérculos sanos y diez materas con tubérculos infectados que se distribuyeron en un diseño completamente al azar dentro de las cámaras.

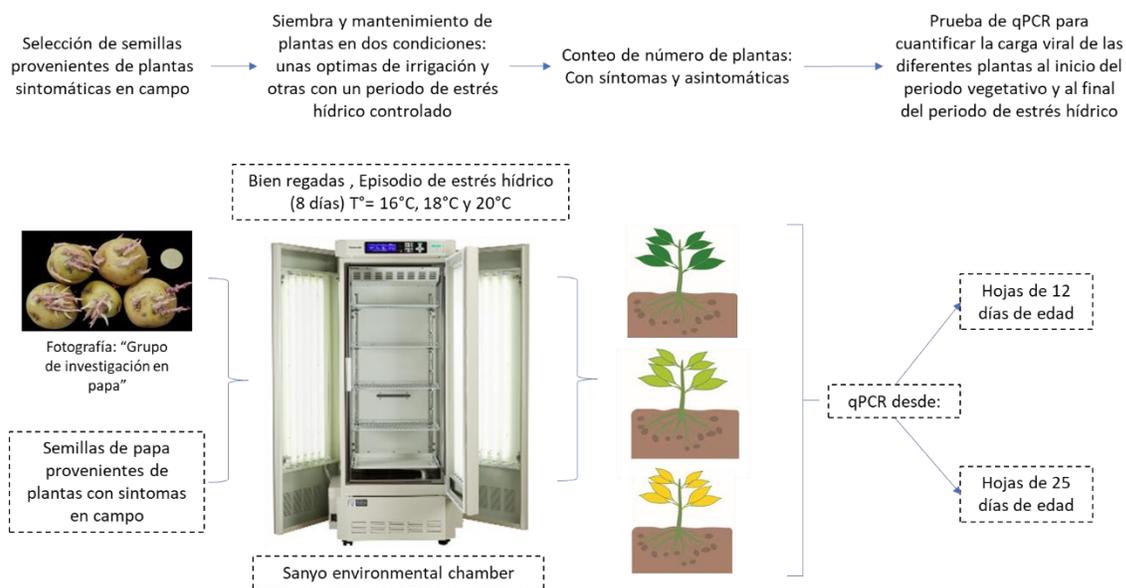
Los tubérculos-semilla de *S. tuberosum* grupo Phureja cv. “criolla Colombia” libres de virus, se obtuvieron de cultivos *in vitro* del Centro de investigación Tibaitatá de AGROSAVIA. Se plantaron mini-tubérculos en un sustrato de cáscara de arroz y suelo en una proporción de 3:1 en materas No. 16. Se realizó una única fertilización con 50 gramos de NPK (15-15-15) y se regaron cada tercer día hasta obtener capacidad de campo. Las plantas de *S. tuberosum* grupo Phureja cv. “criolla Colombia” infectadas provenían de tubérculos cuyas plantas madre eran plantas sintomáticas recolectadas en el municipio de Subachoque (Cundinamarca, Colombia) (4.978093, -74.155993). Para confirmar la presencia del virus en las plantas, se realizó RT-PCR según el protocolo propuesto por Hernández y Guzmán (2012). Para ambas clases de tubérculos, infectados y sanos, se sembraron dos tubérculos-semilla por cada matera.

Posteriormente, una vez se cumplieron tres semanas después de la emergencia, se realizó la primera evaluación de síntomas asociados a PYVD en las plantas. Paralelamente, se realizó una colecta del material vegetal. Se tomó una muestra compuesta de tres folíolos de la zona apical de cada planta y se guardaron en tubos falcon de 50 mL que posteriormente se dispusieron en nitrógeno líquido y fueron almacenados a una temperatura de -80° C hasta su procesamiento. Una vez se terminó con la toma de muestras, se dio el inicio del tratamiento de déficit hídrico en diez de las materas, cinco en materas con plantas infectadas y cinco con plantas sanas. Después de ocho días sin suministrar agua, se realizó el riego de las plantas y, tres días después del riego, se realizó la segunda evaluación de síntomas asociados a PYVD y una segunda colecta de material vegetal, similar a la primera.

- 42 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus (PYVV)* en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)

Para realizar la cuantificación del virus se realizó una prueba de qPCR en las plantas de papa antes y después del tratamiento de déficit hídrico. La cuantificación por qPCRs fue realizada en placas de 96 pozos ópticos en una máquina tiempo real Biorad CFX 96™ usando un de sonda TaqMan® de INVITROGEN para amplificar un fragmento de 79pb de la proteína mayor de la cápside de PYVV. Como control interno se cuantificó el gen de α -tubulina constitutivo de la planta. como gen de referencia para la comparación de los valores Δ ct, con valores promedio de positividad de 18 ± 1 . Se analizaron las tres réplicas biológicas con tres repeticiones técnicas. Una prueba ANOVA se utilizó para evaluar las diferencias en la expresión génica.

8.3.1 Resumen gráfico de la metodología del objetivo 3



8.4 Análisis de diagnóstico molecular

8.4.1 Extracción de RNA

Extracción de RNA total con Trizol® (Invitrogen): Se partió de 100mg de tejido vegetal el cual fue procesado de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Anexo 1).

8.4.2 Detección de RT-PCR

La síntesis de ADNc se realizó mezclando la solución tampón de reacción 1X 2 µl, dNTP 1 mM 0,5 µl, DTT 10 mM 1 µl, 0,4 µM de cebador inverso 3' (Primers CP tamaño esperado 79pb; PYVV-591-F: 5' CGG AGA TTA TGT CAA TGG TTC GA 3'; PYVV-670-R: 5' TTG CTG CAT TCT TGA ACA GGT AA 3') 0,5 µl, 0,4 µl de inhibidor de ARNasa, 0,5 µl de HP MMLV HP y 100 ng de ARN para cada reacción. La mezcla se expuso durante 1h a 42 °C seguido de desnaturalización a 70 °C durante 10 minutos.

Las reacciones de PCR contenían 2 µL de ADNc, 2 µL 1X de tampón NH₄, 1 µL 25 mM de MgCl₂, 0,4 µL 10 µM de dNTP, 0,4 µL INVITROGEN TaqMan® (5' 6-FAM AAC CAA CAT TTC TGA TGA TGA TTT GAC TGC AA 3' BHQ1) de cada cebador directo e inverso para obtener un volumen final de 10 µl. El programa de amplificación se realizó mediante una desnaturalización inicial a 94 ° C durante 3 minutos, 35 ciclos de desnaturalización a 94 ° C durante 1 minuto, alineación a 55 ° C durante 1 minuto y extensión a 72 ° C durante 1 minuto seguido de una extensión final a 72 ° C durante 10 min. Como control positivo, se incluyó una muestra de hoja del grupo de *S. tuberosum* grupo Phureja cv Criolla Colombia que expresa síntomas de PYVD. Como controles negativos se usaron, una muestra de hoja de una planta de uchuva (*Physalis peruviana*) infectada con el virus del mosaico del tabaco (TMV), y una muestra de hoja libre de virus del grupo *S. tuberosum* Phureja cv Criolla Colombia (obtenida por cultivo *in vitro* de meristemas).

8.4.3 Determinación de la integridad de los extractos de RNA

La visualización del ARN se realizó en geles de agarosa al 2% en buffer TAE 1X tanto al material colectado en campo como al material libre de virus antes y después de la ejecución de los experimentos. Se sembraron 8 µL de muestra más 8 µL de azul de bromofenol y se utilizaron 8 µL del marcador 100 bp DNA ladder. La electroforesis se efectuó en una cámara de electroforesis horizontal (BIORAD) a 100 voltios constantes durante una hora. La tinción se efectuó con una solución de bromuro de etidio en concentración 4 µg/mL durante 5 minutos. Las fotografías se tomaron en un transiluminador BIORAD con el programa Quantity One.

- 44 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus* (PYVV) en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)
-

8.5 Análisis de los datos

8.5.1 Efecto de la expresión de los síntomas asociados al Potato yellow vein disease (PYVD) sobre los parámetros biológicos de la MBI

Para evaluar el posible efecto del estado de las plantas de papa (libres de virus, infectadas con síntomas e infectadas sin síntomas) sobre la sobrevivencia de los individuos de la MBI, se construyó un modelo lineal generalizado con una distribución binomial y una función de enlace logit. Se usó el estado de las plantas (sanas, infectadas asintomáticas e infectadas sintomáticas) como variable explicativa con plantas sanas como nivel de factor de referencia. La significancia del modelo (comparación con el modelo nulo) se llevó a cabo usando una prueba de chi-cuadrado. La magnitud de la diferencia y la significancia entre los niveles sintomática, asintomática y sana, se examinó mediante un análisis de prueba de rango “*Post hoc*” de Tukey ajustado para modelos generalizados, tomando como significancia valores menores 0.05 (Ritz et al. 2015). Para comparar las tasas de desarrollo de las ninfas alimentadas con plantas infectadas sintomáticas, asintomáticas y sanas, se construyeron modelos log-logísticos que describen la proporción de adultos emergidos, A , en el tiempo t , así:

$$A = \frac{1}{1+(b(\log(t)-\log(e)))}$$

donde b y e son parámetros que se estiman de los datos. Para comparar los tiempos de desarrollo promedio de estados inmaduros a estado adulto, se usó el parámetro e estimado para cada tratamiento (plantas sanas, asintomáticas y sintomáticas) usando una prueba de t . El parámetro e corresponde al tiempo promedio en el que el 50% de los adultos emerge. Los parámetros se estimaron usando el método de estimación por máxima

verosimilitud, asumiendo una distribución binomial de la variable respuesta. Se usó el paquete de R “drc” (Ritz et al. 2015).

8.5.2 Efecto de la expresión de los síntomas asociados al Potato yellow vein disease (PYVD) sobre el comportamiento de MBI

Para establecer si la elección de los adultos de la MBI cambia con el tiempo, se llevó a cabo un análisis de regresión multinomial con la proporción de individuos que seleccionaron cada tratamiento (sana, sintomática y asintomática) como variable respuesta y el tiempo de observación como variable explicativa. La significancia del modelo se comparó con el modelo nulo usando una prueba de chi-cuadrado. Posteriormente, se llevó a cabo un análisis de chi-cuadrado de bondad de ajuste para cada tiempo, con el fin de examinar posibles diferencias en las proporciones adultos que seleccionaron los tratamientos con respecto a la hipótesis nula de no preferencia (33.3% de los individuos seleccionan cada tratamiento). Este análisis se llevó a cabo para los dos experimentos: adultos con y sin contacto previo con PYVV. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa R (R Core Team (2018)). Se asumieron diferencias significativas cuando los valores de P fueron menores de 0.05.

8.5.3 Efecto de la temperatura y el déficit hídrico sobre la expresión de síntomas de PYVV en plantas de papa criolla.

Para determinar si el efecto de la temperatura y el estrés hídrico sobre la expresión de síntomas, se llevó a cabo un análisis de regresión logística con la proporción de plantas con síntomas como variable respuesta y la temperatura, el estrés hídrico y su interacción como variables indicadoras explicativas. Debido a que los datos presentaron el efecto “separación” (todos los eventos de una combinación de factores son iguales), se usó la técnica de reducción de sesgo de Firth para la estimación de los parámetros y los errores estándar (Firth 1995; Heinze and Schemper 2002).

Para evaluar la diferencia entre la cantidad de virus valorada por la expresión relativa del gen de la cápside del virus y la correlación con la expresión de síntomas de PYVV entre los diferentes tratamientos tanto de temperatura como de déficit hídrico, se realizaron ANOVA considerando un valor de significancia de 0.05.

9. Resultados

9.1 Efecto de la expresión de síntomas de PYVD en plantas de papa sobre la sobrevivencia y la tasa de desarrollo de la MBI

9.1.1 Identificación de síntomas y plantas infectadas

La caracterización de los síntomas presentes en las plantas se realizó de acuerdo con lo reportado, evidenciando la clorosis intravenal de las venas secundarias y terciarias en los bordes de las hojas del tercio superior de las plantas de papa (Figura 4).

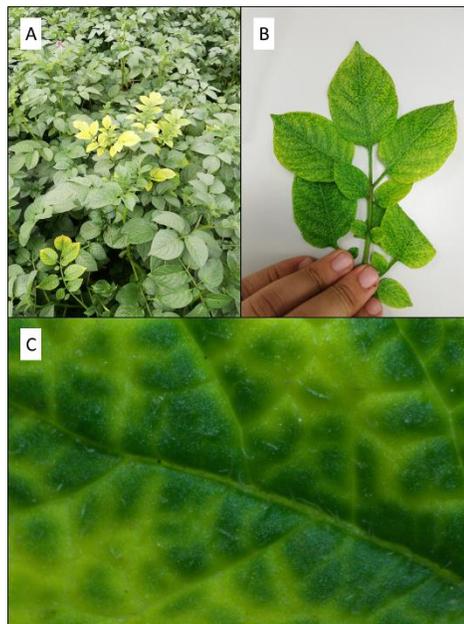


Figura 4. Síntomas generados por PYVD en campo. A) Síntomas de planta con folíolos con evidentes síntomas de la enfermedad en campo. B) Foliolo con características evidentes de la enfermedad. C) Foliolo de papa afectado con síntomas bajo

En las pruebas de RT-PCR que se realizaron para determinar la presencia o ausencia del virus en los materiales evaluados, se demostró que todas las muestras evaluadas como infectadas sintomáticas o asintomáticas tuvieron un resultado positivo (Figura 5). Esto muestra que la presencia del virus era consistente con las características asignadas de expresión de síntomas para estas muestras.

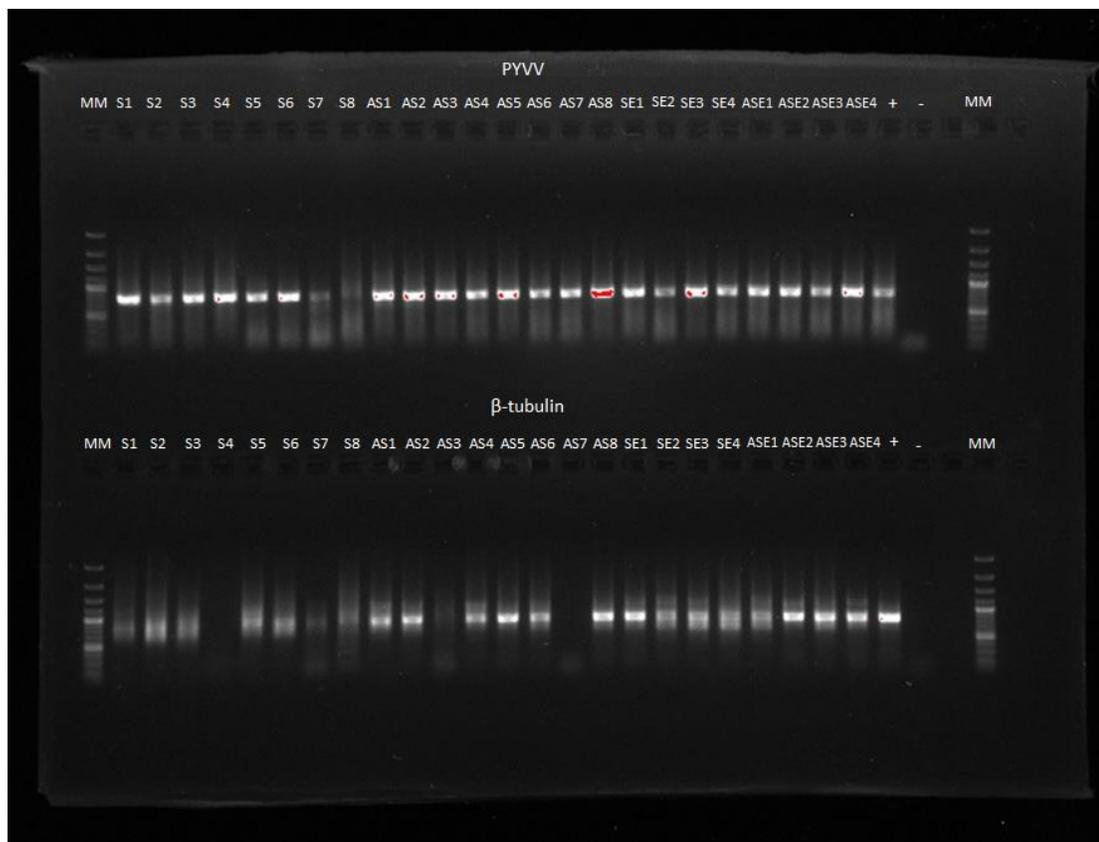


Figura 5. Análisis molecular por el método RT-PCR para la detección cualitativa de PYVV a través de la amplificación de un fragmento del gen de la proteína de cápside. El gen de B-tubulina corresponde a un control interno de la calidad de la extracción del ARN.

El estado de las plantas (sana, infectada con síntomas, e infectada sin síntomas) tuvo un efecto significativo sobre la sobrevivencia de los individuos de la MBI ($P < 0.05$). Todos los coeficientes del modelo binomial fueron significativamente diferentes de cero (Tabla 1).

Tabla 1. Valores de coeficientes estimados para el modelo binomial que explica la sobrevivencia de individuos en función del estado de las plantas con las que fueron alimentados

Estado	Valor estimado	Error estándar	<i>P</i>
Sana (intercepto)	1.7413	0.1634	< 0.05
Asintomática	-1.5161	0.1887	< 0.05
Sintomática	-1.3460	0.1985	< 0.05

Las MBI alimentadas con plantas infectadas tanto sintomáticas como asintomáticas, mostraron una reducción significativa en su tasa de sobrevivencia, donde el promedio de

individuos que cambiaron al estado adulto fue de alrededor del 80% de los individuos individuos que se encontraron en las plantas. Por otro lado, los individuos que se alimentaron con plantas de papa libres de virus tuvieron una mayor sobrevivencia (entre 80% y 95%), con respecto a las plantas infectadas con PYVV sin importar si estas exhibían o no síntomas de la enfermedad. Al realizar el análisis de pruebas de rango “*Post hoc*” y comparar las plantas sintomáticas con las asintomáticas se evidenció la separación de dos grupos, siendo significativamente diferente el grupo en el que no están involucradas las plantas sanas (Fig. 6).

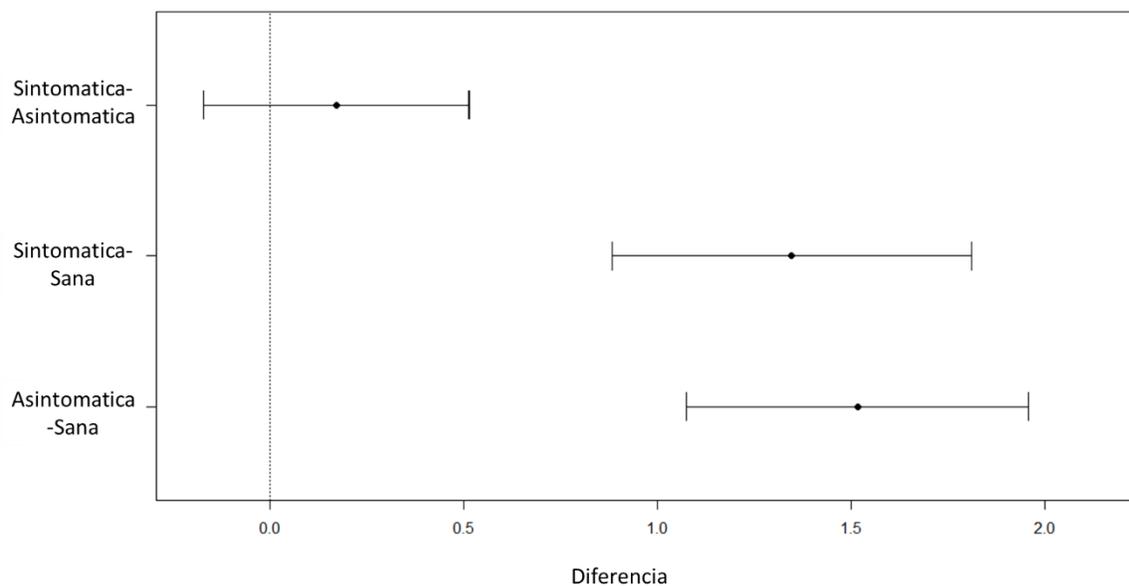


Figura 6. Magnitud relativa de las diferencias entre tasas de sobrevivencia de MBI en plantas de papa criolla libres de PYVV, y de plantas infectadas sintomáticas y asintomáticas en condiciones ambientales controladas.

9.2 Efecto de la expresión de síntomas sobre la tasa de desarrollo de la MBI

La expresión de los síntomas tuvo un efecto significativo en la duración del ciclo de vida de MBI. Los insectos alimentados con plantas infectadas con PYVV y que expresaron síntomas aumentaron su ciclo de vida en más de cinco días para alcanzar su estado adulto ($58,64 \pm 0.075$ días) en comparación con las plantas sanas libres de virus ($53,09 \pm 0.086$ días). Por otro lado, MBI alimentadas con plantas infectadas asintomáticas, tuvieron una

diferencia significativa con las alimentadas con plantas sanas, reduciendo el ciclo de vida alrededor de tres días (50.57 ± 0.056 días). La prueba de t evidenció que todas las diferencias entre los tiempos de desarrollo de los individuos fueron significativas ($P < 0.05$) (Figura 7).

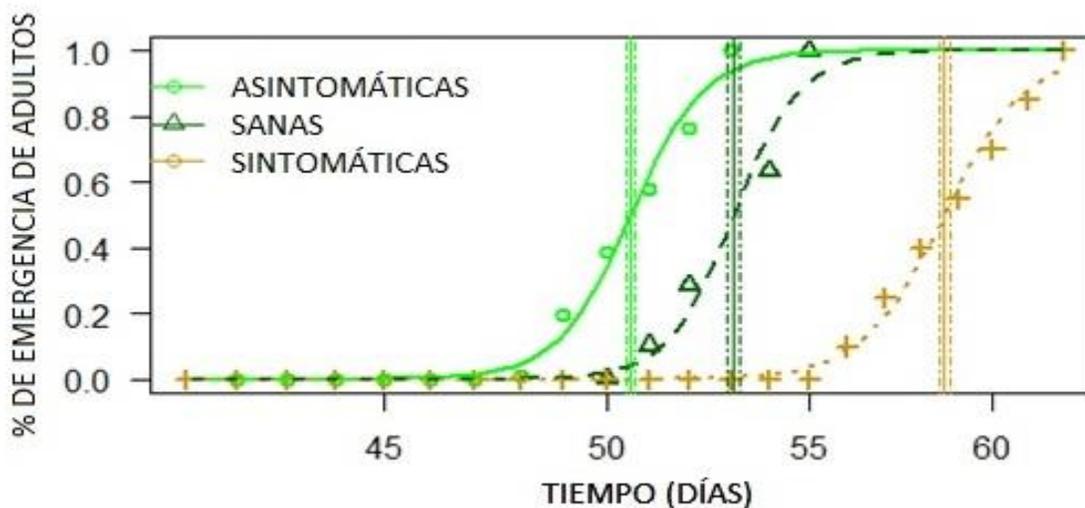


Figura 7. Tiempo medio de cambio a la edad adulta en estado MBI alimentado por plantas sanas, sintomáticas y asintomáticas en condiciones controladas. Las líneas sólidas representan el tiempo promedio en días en el que el 50% de los adultos emergieron y las líneas punteadas los respectivos errores estándar.

9.3 Efecto de la expresión de síntomas de PYVD en plantas de papa sobre el comportamiento de MBI

9.3.1 Preferencia de MBI libre de virus

La preferencia de los adultos de MBI por plantas libres de PYVV, sintomáticas o asintomáticas no cambió a lo largo del tiempo de observación, de acuerdo con la regresión multinomial ($X^2 = 2.300$, $P = 0.3166$). Sin embargo, la preferencia de los adultos de MBI fue consistente diferente dependiendo de si la planta era sana, sintomática o infectada asintomática. La mayoría de los 10 adultos evaluados en cada replica biológica prefirieron los folíolos infectados (sintomáticos y asintomáticos) con PYVV en comparación con los folíolos libres de virus durante todos los tiempos evaluados (Tabla 2, Figura 8).

- 50 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus (PYVV)* en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)

Tabla 2. Resultados de las pruebas de chi-cuadrado de bondad de ajuste para cada tiempo de observación con adultos de la MBI sin contacto previo con PYVV.

	T = 30 min	T = 60 min	T = 120 min	T = 240 min	T = 1440 min
χ^2	27.714	24.923	53.097	102.55	66.812
<i>P</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

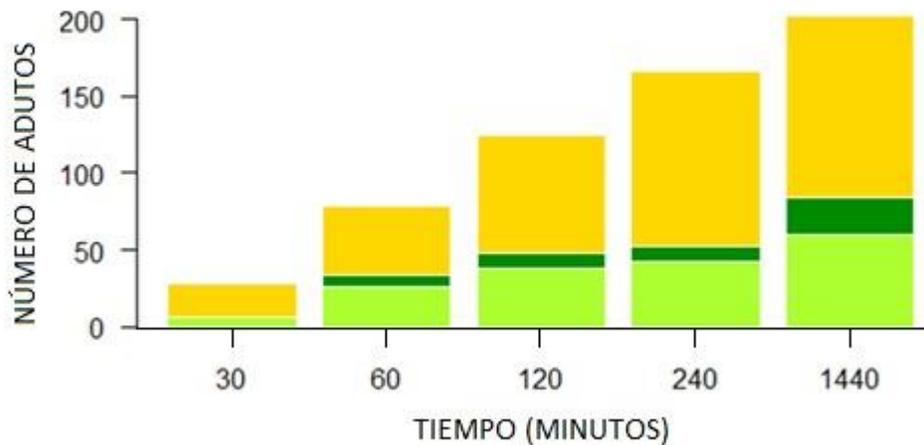


Figura 8. Preferencia de MBI sin contacto previo con PYVV. El color amarillo indica plantas infectadas sintomáticas, el verde claro plantas infectadas asintomáticas y el verde oscuro libres de virus (sanas).

9.3.2 Preferencia de MBI alimentados previamente con plantas infectadas con PYVV

En contraste con lo encontrado con adultos de MBI sin previo contacto con PYVV, las MBI que tuvieron contacto previo con PYVV modificaron su preferencia por folíolos sanos, sintomáticos o asintomáticos con el tiempo de observación ($\chi^2 = 8.992$, $P = 0.011$) en cada réplica biológica en la que se evaluaron 10 adultos. Tal modificación en preferencia en el

tiempo consistió en la reducción de la preferencia por plantas infectadas (sintomáticas o asintomáticas) en beneficio de las plantas sanas, como lo evidencian los valores de los coeficientes de la regresión multinomial (Tabla 3).

Tabla 3. Coeficientes estimados del modelo de regresión multinomial. Los coeficientes con signo negativo indican una preferencia decreciente con el tiempo de observación en el experimento.

Estado	Coefficiente	Error estándar
Infectada Asintomática	-0.237	0.08
Infectada Sintomática	-0.104	0.09

Esa tendencia se conservó a través de tiempo de observación, en los que se encontraron diferencias significativas con respecto a la hipótesis nula de no preferencia (Tabla 4, Figura 9).

Tabla 4. Resultados de las pruebas de chi-cuadrado de bondad de ajuste para cada tiempo de observación con adultos de la MBI con contacto previo con PYVV.

	T = 30 min	T = 60 min	T = 120 min	T = 240 min	T = 1440 min
χ^2	14	22.571	41.931	74	158.16
<i>P</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

- 52 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus* (PYVV) en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)
-

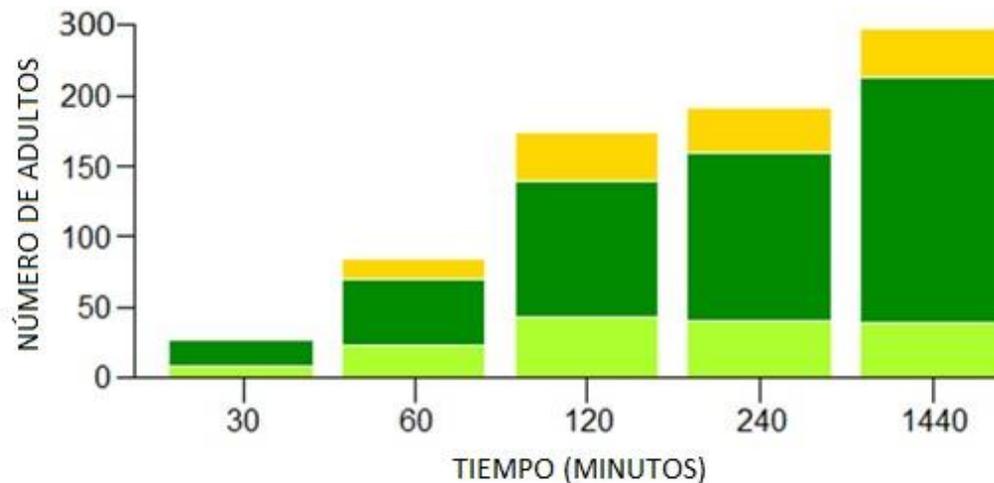


Figura 9. Preferencia de MBI con contacto previo con PYVV. El color amarillo indica plantas infectadas sintomáticas, el verde claro asintomáticas y el verde oscuro libres de virus (sanas).

9.4 Efecto de la temperatura y el déficit hídrico en plantas de papa sobre la expresión de síntomas de PYVD y replicación de PYVV.

9.4.1 Correlación entre los factores abióticos de temperatura y déficit hídrico con la aparición de síntomas

El análisis de regresión logística evidencia que la sola presencia de infección de PYVV no es suficiente para explicar la expresión de los síntomas en plantas de papa. También, como era de esperarse, se evidenció que las plantas sin infección de PYVV (sanas), no expresaron síntomas ni con estrés hídrico, ni con la exposición a diferentes temperaturas.

Las plantas infectadas con PYVV solo evidenciaron una expresión significativa de síntomas cuando estuvieron expuestas a estrés hídrico (Tabla 5, figura 10).

Tabla 5. Resultado del análisis de regresión logística mostrando los valores estimados de los coeficientes para cada nivel de factor evaluado. El intercepto (referencia) corresponde a las plantas sin PYVV y sin estrés hídrico (sanas, con agua). Ninguno de los niveles ni interacciones evaluadas es significativo para la expresión de síntomas, excepto la interacción entre el estado de infección y el riego, cuando hay infección de PYVV y estrés hídrico (sin agua).

Factor y nivel	Coefficiente	Error estándar	X ²	P
Intercepto	7.047	8.369	0.710	0.399
Estado: Infectada	-9.055	8.760	1.112	0.291
Estado: Sana x Riego: Sin Agua	0.000	1.138	0.000	1
Estado: Infectada x Riego: Sin Agua	1.239	0.503	6.671	< 0.001*
Estado: Sana x Temperatura	-5.880	0.502	1.603	0.205
Estado: Infectada x Temperatura	1.169	0.142	6.998	0.402

54 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus (PYVV)* en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)

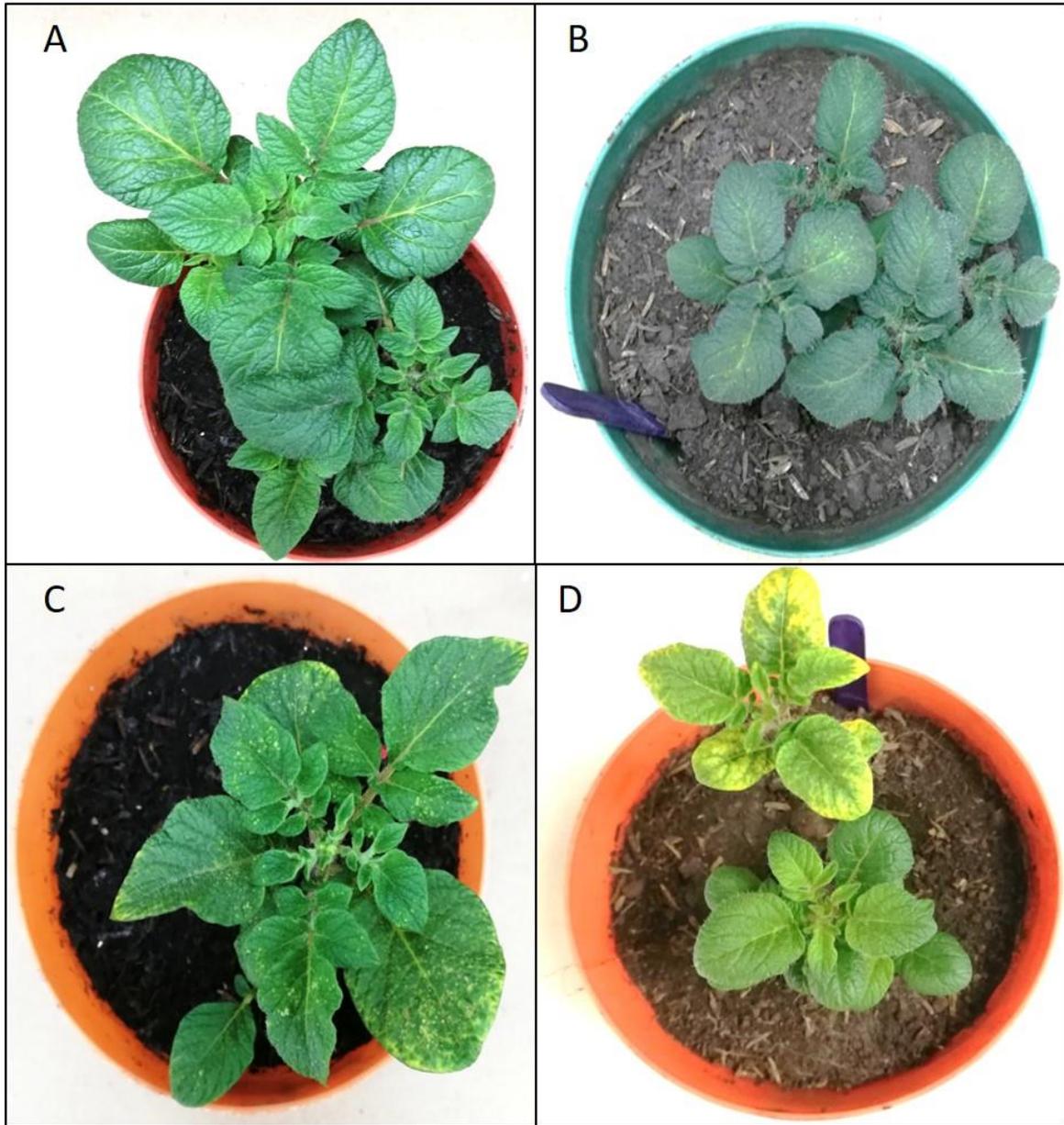


Figura 10. Efecto del estado hídrico sobre la expresión de síntomas de PYVD en plantas de papa criolla. A) Planta sana sin déficit hídrico. B) Planta sana con déficit hídrico. C) Planta infectada sin déficit hídrico. D) Planta infectada con déficit hídrico.

9.4.2 Cuantificación de la expresión del virus bajo los parámetros de estrés abiótico

Se encontraron diferencias significativas en el número de copias del gen de proteína de la cápside del virus en las plantas que estuvieron bajo un estrés hídrico y aquellas que tuvieron un riego constante. Las diferencias significativas fueron evidentes en las plantas evaluadas bajo temperaturas de 18° C y 20° C, siendo a 18° C dos veces mayor la concentración relativa del gen de la proteína de la cápside del virus en plantas que tuvieron un déficit hídrico (10 plantas por cada repetición) comparadas con aquellas, que tuvieron un riego constante, pero mucho más evidentes bajo una temperatura de 20° C con una expresión relativa de tres veces mayor. A 16° C no se encontraron diferencias significativas entre las plantas con estrés y sin estrés. Los valores promedio de ΔCt obtenidos para plantas se muestran en la tabla 6:

Tabla 6: Resultados de cuantificación relativa del gen de la proteína de la cápside en plantas de papa correspondientes al estado hídrico y de presencia o ausencia del virus PYVV.

Temperatura	Infectada/Sana	Riego	Cuantificación relativa
16°C	Infectada	Control	1.47
16°C	Infectada	Control	1.60
16°C	Infectada	Control	1.75
16°C	Infectada	Sequía	1.84
16°C	Infectada	Sequía	1.92
16°C	Infectada	Sequía	1.87
16°C	Sana	Control	0
16°C	Sana	Control	0
16°C	Sana	Control	0
16°C	Sana	Sequía	0
16°C	Sana	Sequía	0
16°C	Sana	Sequía	0
18°C	Infectada	Control	1.06
18°C	Infectada	Control	1.22
18°C	Infectada	Sequía	3.30
18°C	Infectada	Sequía	2.46
18°C	Sana	Control	0
18°C	Sana	Control	0
18°C	Sana	Sequía	0

- 56 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus (PYVV)* en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)

18°C	Sana	Sequía	0
20°C	Infectada	Control	8.25
20°C	Infectada	Control	6.31
20°C	Infectada	Control	5.84
20°C	Infectada	Sequía	29.49
20°C	Infectada	Sequía	23.98
20°C	Infectada	Sequía	12.40
20°C	Sana	Control	0
20°C	Sana	Control	0
20°C	Sana	Sequía	0
20°C	Sana	Sequía	0

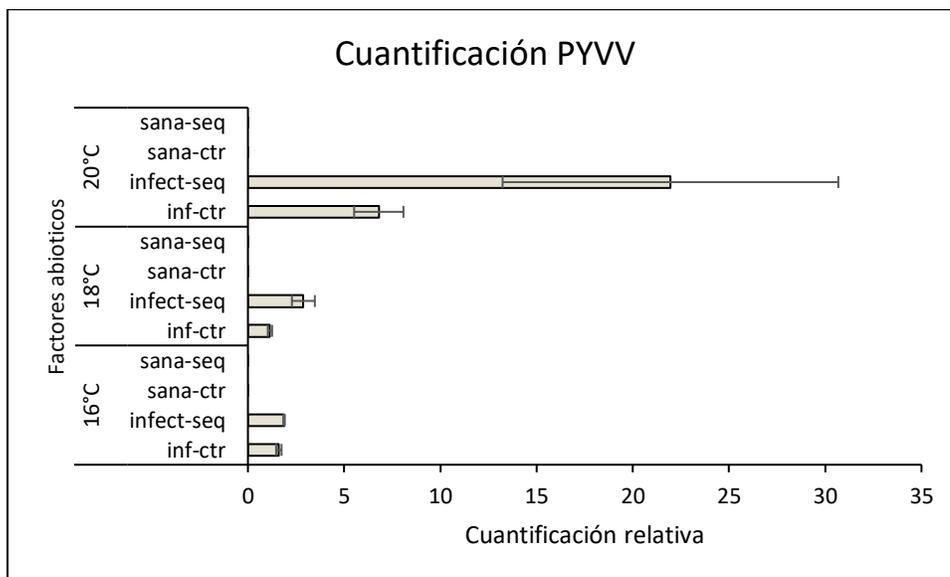


Figura 11. Resultados de qPCR para evaluar la cantidad relativa del gen de la proteína de la cápside virus bajo condiciones de temperatura y déficit hídrico controladas. Las barras de error corresponden a la desviación estándar.

10. Discusión

10.1 Efecto del estado sanitario del hospedero sobre la tasa de desarrollo del vector

Con el fin de determinar el efecto que tenía la expresión de síntomas de PYVD sobre la tasa de desarrollo del vector MBI, se realizaron experimentos y se evaluaron los efectos sobre la sobrevivencia y la longevidad de MBI. Existen varios estudios que evidencian que los virus pueden generar cambios físicos y químicos en su hospedero (Bosque-Pérez y Eigenbrode 2011; Guzmán-barney et al. 2012; Kong et al. 2014; Chen et al. 2020). Muchos de estos cambios son usados para poder atraer al vector y así hacer más eficiente y efectiva la transmisión horizontal de los virus (Casteel and Jander 2013; Rajabaskar et al. 2014) y pueden promover la fecundidad del insecto vector (Chen et al. 2020). Los cambios en la coloración y la arquitectura de las hojas de las plantas hospederas de virus vegetales son los más caracterizados, siendo el amarillamiento y los entorchamientos los más comunes (Li et al. 2018). La afectación de las plantas en su capacidad nutricional también se refleja en diversos estudios donde se evidencia que la infección con virus puede disminuir la capacidad de producción de nutrientes usados por la planta para su mantenimiento (Bosque-Pérez and Eigenbrode 2011; Mauck et al. 2018; Szczepaniec and Finke 2019). Así mismo, se han reportado cambios fisiológicos en ciertas estructuras de las plantas como el floema, el cual parece ser obstruido, causando restricciones al acceso de nutrientes para el establecimiento y el crecimiento (D N Byrne y T S Bellows 1991; Fereres 2015; Szczepaniec y Finke 2019).

Los cambios que se observaron en las plantas de papa de los experimentos de este estudio aceptan la hipótesis de este trabajo que establece que la expresión de síntomas debida a la infección de PYVV es un mecanismo para incrementar la tasa de trasmisión horizontal. En particular, la reducción en la tasa de desarrollo que se observó en los individuos de la MBI que se alimentaron de plantas infectadas con síntomas sustentan la primera predicción (ver sección 6). Esa predicción establece que la estrategia de transmisión horizontal causa la expresión de síntomas mediante la reducción de la capacidad nutricional de la planta y la oferta para el vector, lo que a su vez reduce la retención del vector en las plantas infectadas. Sin embargo, en este estudio se evidenció que las plantas

58 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus (PYVV)* en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)

que estaban infectadas, pero que no exhibían síntomas, tuvieron una disminución en el tiempo medio de emergencia de los adultos (ie., incremento en la tasa de desarrollo). Esto puede deberse a que las plantas infectadas asintomáticas posiblemente están invirtiendo recursos evitando el avance de la infección y la expresión de los síntomas. Tanto los insectos de aparato bucal de tipo chupador como los virus vegetales, pueden activar la ruta metabólica del ácido salicílico en su hospedero que se relaciona con la respuesta sistémica adquirida (Groen et al. 2017; Carr et al. 2019). Esto explicaría que al ser atacadas al mismo tiempo por un virus y un vector, las plantas deben gastar más energía en la defensa contra ambas amenazas, debilitando la capacidad de defensa de la planta al vector y permitiéndole tomar ventaja sobre su hospedero, aumentando su capacidad de reproducción (He et al. 2015). Esto también explicaría la menor tasa de desarrollo que se observó en los individuos que se alimentaron de plantas sanas, ya que estas cuentan con un estrés menor y por tanto una mayor capacidad de respuesta contra el vector (Tzanetakis et al. 2013; Bak et al. 2017; Gallet et al. 2018). Por otro lado, las plantas que están enfermas y con síntomas que las afectan fisiológicamente (turgencia y calidad nutricional) ofrecen una calidad nutricional más pobre afectando la tasa de desarrollo del vector, por lo que le toma más tiempo poder llegar al estado de adulto (Ferreles and Moreno 2009; Ferreles 2015), lo que a su vez haría que los insectos deban buscar una nueva planta hospedera para alimentarse aumentando la posibilidad de transmitir al virus.

De acuerdo con los resultados de este estudio, la expresión de síntomas de las plantas infectadas por PYVV afecta las tasas de sobrevivencia del vector, siendo significativamente menor en plantas infectadas en comparación con aquella que se observó en plantas sanas. Esto puede deberse a una disminución en la cantidad de nutrientes esenciales para el vector por lo que tiene una clara desventaja para completar su ciclo de vida con respecto a los insectos alimentados de plantas sanas, y los asintomáticos infectados. Estos resultados concuerdan con los resultados reportados por Chesnais et al. (2019) donde los insectos vectores, al ser sometidos a diferentes dietas, muestran un efecto negativo sobre la sobrevivencia del vector. Estos resultados concuerdan la primera predicción de este trabajo (ver sección 6) que establece que los cambios inducidos por el patógeno sobre el hospedero infectado reducen las tasas de desarrollo y sobrevivencia del vector para incrementar la dispersión y transmisión a largo plazo. En consecuencia, los resultados de

este estudio sustentan el modelo teórico planteado por Mauck et al. (2012) y nuestra predicción en la que las plantas de papa con síntomas de infección con PYVV presentaron una baja calidad nutricional para la MBI, lo que redujo la tasa de desarrollo de los individuos que se alimenta de plantas infectadas tanto sintomáticas como asintomáticas.

10.2 Efecto del estado sanitario del hospedero sobre el comportamiento del vector MBI

Con el fin de evaluar los efectos de la expresión de síntomas en las plantas de papa criolla sobre el comportamiento de la MBI, se realizaron dos experimentos. En el primer experimento, se evaluaron adultos de MBI sin contacto previo con el virus. En el segundo, se evaluó los efectos de la expresión de síntomas sobre el comportamiento en adultos de MBI previamente alimentados con plantas de papa infectadas con PYVV.

Las señales físicas y químicas que genera el hospedero infectado por el virus son fundamentales para inducir una potencial modificación del comportamiento del vector. La expresión de síntomas y su papel en la modificación de comportamientos del insecto vector han sido ampliamente estudiados en diferentes familias de virus (van Roermund and van Lenteren 1992; Colvin et al. 2006; Fereres et al. 2016) y también específicamente en closterovirus (Jones 2003; Kiss et al. 2013; Lu et al. 2017) y crinivirus (Martelli et al. 2002; Jones 2003; Navas-Castillo et al. 2014; Osorio et al. 2016).

Tal como se planteó en la predicción 2 (sección 6), se encontró que las plantas con síntomas de infección con PYVV son más atractivas que las plantas sin síntomas para los adultos de la MBI. Apesar de que los virus de transmisión semi-persistente, como PYVV, se localizan en las partes proximales del intestino medio de los insectos vectores, también se observó que el patrón de selección de planta hospedera se modifica si los adultos de la MBI tuvieron un contacto previo con plantas de papa infectadas con PYVV. Tal alteración podría potencialmente aumentar la tasa de transmisión de las partículas virales a hospederos sanos. La alteración del comportamiento fue evidente en vectores no virulíferos, los cuales prefirieron las plantas infectadas con síntomas, mientras que aquellos que habían tenido contacto previo con el virus prefirieron las plantas sanas. Esto es similar en otros sistemas de transmisión persistente en los cuales los virus pueden afectar el

60 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus* (PYVV) en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)

comportamiento de los vectores virulíferos y generar que estos prefieran hospederos sanos para alimentarse (Bosque-Pérez and Eigenbrode 2011; Casteel et al. 2014; Wu et al. 2014; Peñafior et al. 2016). Tal es el caso de *Tomato severe rugose virus* (ToSRV, *Geminiviridae*) y de *Tomato chlorosis virus* (ToCV, *Closteroviridae*) en tomate, donde se observó un cambio del comportamiento del vector cuando este había interactuado previamente con el virus comparándolo con individuos que no tenían contacto previo con el virus específico (Fereres et al. 2016). Tal cambio en el patrón de selección de hospedero por parte de la MBI también se evidencia en que los adultos que venían de plantas infectadas cambian de preferencia con el tiempo del experimento. Es decir, durante el tiempo que transcurrió el experimento estos adultos incrementaron su preferencia hacia las plantas sanas. La hipótesis se sustenta en la condicionalidad a la experiencia previa de adquisición del virus, modificando a su vez la selección de futuras plantas hospederas. Esta condicionalidad se explica porque los insectos aprenden mediante una asociación ya sea entre los olores o disponibilidad de nutrientes claves en su dieta. Estos estímulos pueden asociarse con macronutrientes o presencia/ausencia de proteínas. Así, los insectos individualmente pueden aprender a alimentarse de un hospedero que en particular satisfaga su dieta para asegurar su sobrevivencia (Bernays 1994).

No se encontró que existiera una diferencia en el tiempo de elección de las plantas ni tampoco en la distribución entre ellas en los primeros 60 minutos de los insectos que tuvieron una experiencia previa con plantas de papa infectadas con PYVV. Sin embargo, en el periodo entre 120 y 1440 minutos (24 horas) después de iniciado el experimento, se observó que los adultos de la MBI respondieron en una mayor proporción de escogencia de las plantas sanas, con respecto a los adultos no virulíferos de PYVV que fueron alimentados previamente con plantas de frijol. Este pudo deberse a que los insectos tienen memoria alimentaria, es decir, son capaces de reconocer un hospedero que prefieren como fuente de alimentación basado en la experiencia previa como ha sido representado en áfidos y otros vectores cambiando su posición dentro de la planta basado en sus experiencias con pruebas cortas (Fereres and Moreno 2009). A pesar de que se encontraron estas diferencias, en este estudio no podemos concluir si la palatabilidad de estas especies tiene un efecto sobre la elección de los hospederos. Sin embargo, Chesnais et al. (2019) explica que son los cambios en la producción de carbohidratos del huésped

inducidos por el virus los que pueden determinar la expresión de síntomas de la enfermedad y no la palatabilidad del mismo en virus de TP.

En este estudio se encontró que la manipulación de los comportamientos de alimentación de MBI mediada por la expresión de síntomas en la planta de papa infectada con PYVV puede favorecer la transmisión del virus. Es necesario aclarar que, con los resultados obtenidos aquí, no se evidencian completamente los mecanismos que explican el cambio en los patrones de selección de hospedero por parte de la MBI. Futuros estudios deben llevarse a cabo para establecer el mecanismo por el cual los virus semi-persistentes como PYVV, sin necesariamente llegar al cerebro del insecto, pueden alterar el comportamiento del vector. Pruebas de olfatometría podrían cubrir estas incógnitas como lo encontraron He et al. (2015) en el sistema *Bemisia tabaci*-*Tomato yellow leaf curl China virus* (TYLCCNV)- Tomate.

Los resultados obtenidos en este trabajo pueden parecer contradictorios con otros estudios donde virus de transmisión semi persistente no cambia el comportamiento del vector, pues estos virus no llegan al cerebro del insecto. Se han registrado evidencias en las que virus de TSP no pueden llegar al cerebro del vector y por tanto les es imposible cambiar las decisiones de este ante un estímulo determinado (Whitfield et al. 2015). Esto abre una discusión sobre los diferentes mecanismos que pueden ser empleados por los virus para favorecer su dispersión. Más aún, los mecanismos de transmisión de los virus semi-persistentes pueden compartir características de virus persistentes y no persistentes, por lo que los primeros podrían ser recategorizados dependiendo de los rasgos del sistema que se examinen (virus, hospedero y vector).

Los resultados aquí presentados evidencian que los síntomas expresados por plantas de papa infectadas con PYVV incrementan la atracción de adultos de la MBI, tal como lo establece la predicción 2 (sección 6). Sin embargo, también se observó que el patrón de selección de hospedero puede cambiar, si el vector fue expuesto de manera previa a plantas infectadas con PYVV. Estos resultados indican que un virus de TSP, como el PYVV, puede compartir características de virus con transmisión persistente, incluso en aspectos como la manipulación de comportamiento de selección de hospedero del vector, que se creía exclusiva de virus persistentes circulativos (TP).

62 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus* (PYVV) en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)

10.3 Efecto de los factores abióticos sobre la expresión de síntomas inducidos por PYVV y presencia de PYVV en plantas de papa

No se encontraron diferencias en la expresión de síntomas en las plantas de papa cuando estas fueron expuestas a diferentes regímenes de temperatura. Más aún, la sola infección de PYVV, como factor, no fue suficiente para explicar la aparición de síntomas asociados a PYVV. Tanto la expresión de los síntomas como la concentración del virus fueron significativamente diferentes solamente cuando las plantas infectadas fueron sometidas a déficit hídrico. Se sabe que varias vías metabólicas asociadas a hormonas de señalización causadas por la infección del virus como etileno, ABA o ácido salicílico, pueden explicar una disminución en la tasa fotosintética de la planta y por tanto una menor cantidad de nutrientes que se desplazan hacia los demás órganos de la planta, generando la aparición de síntomas en las plantas (Atkinson et al. 2013; Davis et al. 2015; Szczepaniec and Finke 2019). Así mismo, en los closterovirus, la replicación de partículas virales dentro de las células puede afectar la actividad fotosintética de la planta debido a que existe una tendencia que se aglomeran, dificultando el movimiento a través del floema y obstaculizando físicamente el paso de glucosa generada en los órganos fotosintéticamente activos a otros órganos de la planta (Agranovsky et al. 1998; Alzhanova et al. 2001; Qiao et al. 2017, 2018). Este puede ser el mecanismo empleado por el virus para inducir la expresión de síntomas, que posteriormente tendrá efectos sobre la atracción del vector a las plantas infectadas.

Según las predicciones de este trabajo, la temperatura era un factor que podía generar un estrés en las plantas, y eso resultaría un aumento en la concentración del PYVV, pero esto no ocurrió en todas las temperaturas. Se evidenció una diferencia en la concentración viral respecto en plantas a 20 y 16 °C con déficit y sin déficit de agua. Existieron diferencias en concentración en temperatura, pero fue mayor con déficit de agua. Por otro lado, encontramos que el déficit hídrico si tuvo una relación directa con la concentración del virus y la expresión de síntomas. Con esto, podemos concluir que la asociación entre la infección

y el déficit hídrico explica y predice de una manera muy robusta la expresión de los síntomas asociados a PYVD.

También se ha evidenciado en otros sistemas de virus y de patógenos que las plantas que han estado bajo un estado de estrés, (como el déficit hídrico,) son más susceptibles al ataque de patógenos. Las conclusiones de algunos estudios con respecto a la susceptibilidad de dichas plantas, se debe a la disminución de la respuesta inmune del hospedero. Esta disminución se da por la generación de especies reactivas de oxígeno, óxido nítrico y el fenómeno de apoptosis, los cuales pueden afectar el funcionamiento y el metabolismo de las células (Mach et al. 2001; Shao et al. 2008; Shanker et al. 2014). En el caso del patosistema de *Magnaporthe oryzae* -arroz se ha determinado un modelo en donde existe un aumento de la susceptibilidad después de una sequía intermitente donde la inmunidad es baja después de la inoculación y donde las funciones de patogenicidad se expresan de manera diferencial en plantas estresadas por la sequía en comparación con una normalmente regada. Ese modelo plantea que el patógeno adapta su estrategia de virulencia en función de una o varias señales derivadas de plantas y que esta estrategia también favorece el colapso de la inmunidad inducida por efectores al reducir la expresión de efectores y / o al disminuir la expresión del gen R (Bidzinski et al. 2016).

Durante la época de sequía también existen otros efectos sobre la evolución de la epidemia del virus que no están asociados únicamente a la fisiología del hospedero. Durante un periodo de sequía aumentan las probabilidades que las poblaciones de MBI sean mayores (Perring et al. 2018), por lo que aumenta a su vez la probabilidad de que la enfermedad se disperse más rápido (Rincon et al. 2019). Estos resultados nos permiten concluir que el evitar un estrés por déficit hídrico en el periodo vegetativo de las plantas de papa, puede ser fundamental en el objetivo de disminuir la capacidad de propagación del virus.

Los resultados mostrados y discutidos en este estudio pueden justificar de manera parcial la epidemia que se describió en el año 2014 por cuenta del virus PYVV. Debido a que en el mes de diciembre del año 2014 se registró la alerta fitosanitaria emitida por el ICA, mediante la resolución 4213: "Por medio de la cual se declara el estado de emergencia fitosanitaria en los departamentos de Cundinamarca, Boyacá, Nariño, y Antioquia por la presencia de plagas conocidas como virus del Amarillamiento de las Venas de la Papa (PYVV) y su vector la Mosca Blanca de los invernaderos (*Trialeurodes vaporariorum*) en

64 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus* (PYVV) en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)

los cultivos de papa.”. Al indagar en las condiciones meteorológicas que se reportaron en el país para ese año, se encontró que se dieron las condiciones ambientales propicias para expresión de síntomas de diversas enfermedades en plantas.

El año 2014 fue, según el IDEAM, un año con una temporada seca de mitad de año, con baja disponibilidad de agua en el suelo, siendo julio y agosto los meses más deficitarios del segundo semestre. Se encontró una condición adecuada de suministro de humedad en la época lluviosa, correspondiente a los meses de octubre y noviembre bajo un marco de evento niño. Estas épocas caracterizadas como épocas de sequía o baja disponibilidad de agua en el suelo también tuvieron un incremento en la temperatura esperada siendo mayor a 2° C (IDEAM, 2014) (Figuras 12 y 13).

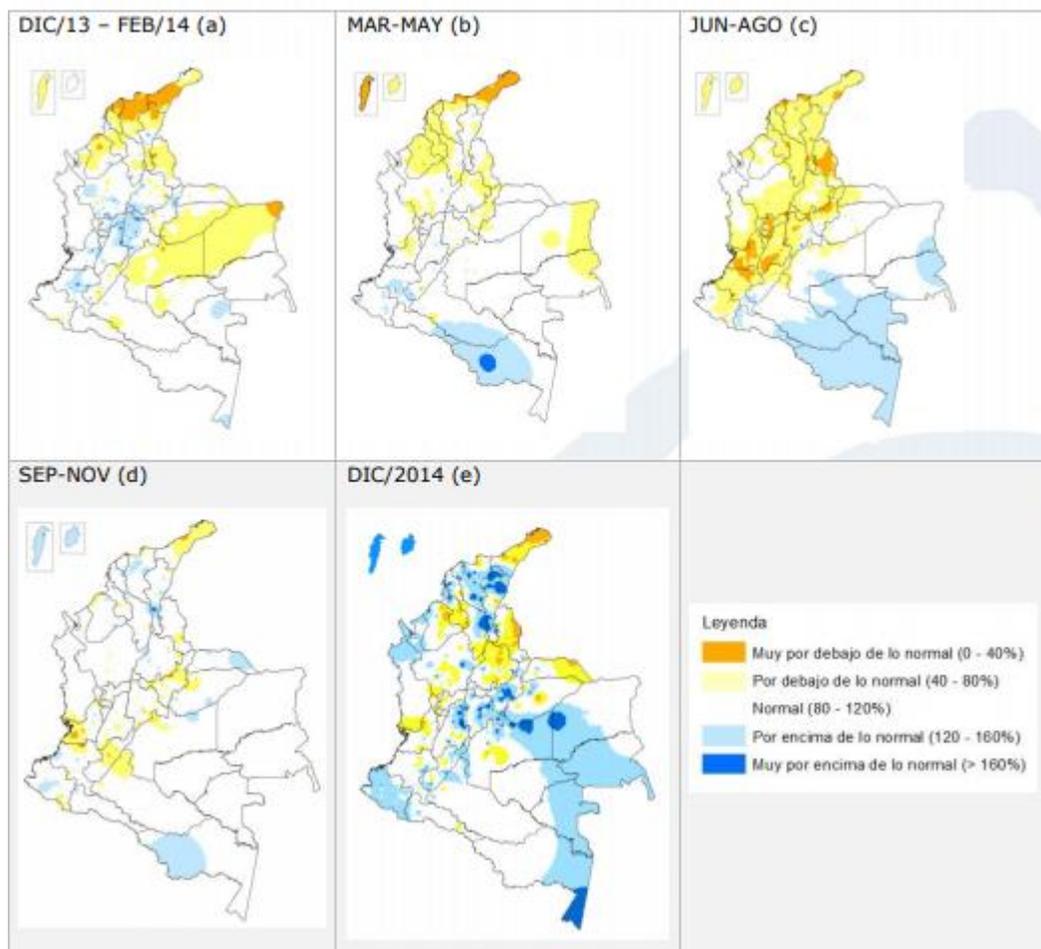


Figura 12. Anomalía de la lluvia acumulada trimestral, respecto al promedio acumulado trimestral histórico (1981-2010). (Positiva o arriba de lo normal colores azules, negativa o

por debajo de lo esperado en amarillo y condición normal en blanco) (IDEAM, 2014).



Figura 13. Anomalía de la lluvia del mes de Julio, respecto al promedio histórico (1981-2010). (Positiva o arriba de lo normal colores azules, negativa o por debajo de lo esperado en amarillo y condición normal en blanco)(IDEAM, 2014).

Al confrontar los datos obtenidos en este estudio y los datos de temperatura y precipitación tomados del IDEAM, se concluyó que el déficit hídrico tuvo un papel importante en el modelo que comprende muchas más variables para poder entenderlo. En él se afirma que el fenotipo de una planta hospedera depende de factores abióticos que incluyen luz, regímenes de temperatura, concentraciones de CO₂, disponibilidad de nutrientes del suelo y en este caso disponibilidad de agua (Mauck et al. 2012; Szczepaniec and Finke 2019).

10.4 Consideraciones finales

Las hipótesis planteadas en este trabajo se aceptan con los resultados de los experimentos de esta tesis. La expresión de síntomas de PYVD tuvo un efecto en la tasa de desarrollo y comportamiento del vector afectando la calidad nutricional de las plantas de papa como hospedero del mismo reduciendo la tasa de desarrollo de los individuos que se alimenten de ellas. También se observó un efecto sobre el comportamiento de MBI, siendo más atractivas las plantas que expresaron síntomas. Además, encontramos que la experiencia del vector tiene un efecto sobre la elección de su hospedero prefiriendo las plantas sanas cuando el vector es virulífero para PYVVvectores. Por último, el estrés asociado a déficit hídrico en plantas de papa infectadas con PYVV favoreció la expresión de síntomas lo que promueve indirectamente la transmisión horizontal del virus.

66 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus* (PYVV) en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)

Con base en estos resultados, concluimos que la adaptación del virus que se transmiten de manera semi-persistentes no son necesariamente intermedios entre los mecanismos de transmisión persistentes y no persistentes. Los virus que se transmiten de manera semi-persistentes pueden adoptar rasgos de ambos extremos teniendo influencia sobre el vector cuando este lo adquiere (TP), desarrollo más prolongado del vector en plantas con síntomas (NP), efecto en la sobrevivencia del vector (NP). Coincidimos con las predicciones en las que se afirma que la influencia de los efectos directos e indirectos de los virus en sus vectores, están modulados por factores asociados al estrés hídrico y la temperatura, generando un vínculo entre ambiente – planta – propagación viral – intensidad sintomática. Esta tesis pretende añadir una pieza más para la comprensión del sistema papa-PYVV-MBI, y evidencia que el virus presenta adaptaciones que involucran la manipulación del hospedero, del vector y de sus interacciones con el ambiente para favorecer su trasmisión. Al final, el análisis de la persistencia de estos sistemas en el tiempo sólo tiene sentido a la luz de la evolución y del hecho de que todo está en todas partes, pero el ambiente selecciona (O'Malley 2008).

11. Conclusiones y recomendaciones

11.1 Conclusiones

- La alimentación de MBI de plantas de papa infectadas por PVV y sintomáticas para PYVD afecta la sobrevivencia y aumenta el tiempo de desarrollo del vector.
- La expresión de síntomas de la enfermedad de PYVD es capaz de manipular el comportamiento de su vector, modificando su elección antes y después de que este contraiga el virus.
- El déficit hídrico tiene un rol importante en la expresión de síntomas de PYVD en plantas de papa infectadas con PVV.

68 El papel de la expresión de síntomas *del Potato yellow vein virus* (PYVV) en la manipulación de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)

11.2 Recomendaciones

- Proponer estrategia de manejo frente a futuras epidemias de PYVV en cultivos de papa en Colombia, atendiendo al diseño de un modelo que incluya población del vector MBI y predicción de aumento de temperatura.
- Replicar este tipo de investigaciones en otros sistemas que involucren virus con mecanismos de transmisión semipersistente, para evidenciar así un contraste con los resultados de la presente investigación.
- Realizar investigaciones que permita evidenciar cambios en la expresión génica del hospedero debido a la alimentación por MBI y la inoculación PYVV, que incidan en el comportamiento de insectos vectores.
- Realizar investigaciones que involucren metodologías olfatométricas que permitan evidenciar el comportamiento de vectores.
- Realizar investigaciones relacionadas con la expresión de genes de defensa basal de la planta ante el estrés abiótico con el fin de profundizar en las respuestas que se pueden dar bajo un estrés conjugado por el virus, el vector y el déficit hídrico.

Anexo 1: Protocolos de extracción de RNA

Extracción de RNA total con Trizol

1. Pulverizar 100mg de material vegetal con Nitrógeno líquido.
2. Homogenizar el material vegetal con 1ml de Trizol® (Invitrogen) e incubar a temperatura ambiente durante 5min.
3. Centrifugar durante 15min a 12000rpm a 4° C y transferir la fase acuosa a un tubo de reacción nuevo.
4. Adicionar 0.2ml de cloroformo, agitar vigorosamente a incubar a temperatura ambiente durante 3min.
5. Repetir paso 3.

Precipitación de RNA:

1. Adicionar 0.5ml de isopropanol e incubar overnight a 4° C.
2. Centrifugar durante 15min a 12000rpm a 4° C y eliminar el sobrenadante.
3. Adicionar 1ml de etanol absoluto, agitar vigorosamente y centrifugar durante 5min a 7500rpm a 4° C, eliminar el sobrenadante.
4. Adicionar 1ml de etanol 70%, agitar vigorosamente y centrifugar durante 5min a 7500rpm a 4° C, eliminar el sobrenadante. 120 detección y cuantificación del *Potato yellow vein virus* (PYVV) en aislamientos de diferentes órganos de *Solanum tuberosum* Grupo Phureja
5. Dejar secar el pellet de RNA y resuspender en 30µl de agua DEPC.
6. Incubar durante 10min a 65° C. 7. Almacenar los extractos a -80° C hasta su procesamiento.

Anexo 2: Protocolos de infección de plantas sanas con PYVV a través del vector *Trialeurodes vaporariorum*.

1. Se colectan 10 individuos de mosca blanca por jaula con 1 a 2 días después de convertirse en adultos de la cría con un colector de insectos o respirador. Se recomienda realizar esta extracción en tempranas horas de la mañana donde la temperatura es menor y hay menor actividad de MBI.
2. Se debe realizar el procedimiento procurando causar el mínimo daño posible a estos adultos.
3. Se instalan jaulas pinza en los folíolos de las plantas infectadas colectadas de campo.
4. Se transfieren los insectos dentro de dichas jaulas pinza y se dejan allí por un periodo de 48 horas que es el tiempo que registra Byrne and and T S Bellows (1991) para que MBI se alimente.
5. Pasadas las 48 horas, se retiran los folíolos con las jaulas pinza.
6. Se alistan plantas sanas de 20 días de edad después de siembra (código 105 en escala BBCH), y se ponen dentro de jaulas de malla (huecos de 0.25mm) a una temperatura controlada de 16°. Se liberan los adultos retirando la jaula pinza del folíolo dentro de la jaula de malla.
7. Para determinar cuáles plantas tienen síntomas se realiza un monitoreo y se examinan las plantas durante 10 a 15 días.
8. Para garantizar que todas las plantas seleccionadas como infectadas durante los experimentos sean portadoras del virus (sintomáticas y asintomáticas) se deben llevar a cabo test de RT-PCR.
9. La eficiencia de este protocolo es baja, cercana al 30%, por lo que se recomienda iniciar con un número de plantas al menos 10 veces mayor al que se desea contar para los experimentos.

A. Registro fotográfico de seguimiento a estados de desarrollo de MBI



Diferentes estados fisiológicos de MBI. Huevo, ninfa 1, ninfa 2 y 3, ninfa 4 y adulto.



Conteo y monitoreo de estados inmaduros de MBI durante el experimento.

12. Bibliografía

- Agranovsky AA, Folimonov AS, Folimonova SY, et al (1998) Beet yellows closterovirus HSP70-like protein mediates the cell-to-cell movement of a potexvirus transport-deficient mutant and a hordeivirus-based chimeric virus. *J Gen Virol* 79:889–895. doi: 10.1099/0022-1317-79-4-889
- Alzhanova D V., Napuli AJ, Creamer R, Dolja V V. (2001) Cell-to-cell movement and assembly of a plant closterovirus: Roles for the capsid proteins and Hsp70 homolog. *EMBO J* 20:6997–7007. doi: 10.1093/emboj/20.24.6997
- Arciniegas N, Guzman M (2003) TÉCNICAS DE DIAGNÒSTICO Y EVALUACIÓN DE RESISTENCIA AL VIRUS DEL AMARILLAMIENTO DE LAS NERVADURAS DE LA PAPA (PYVV) EN ACCESIONES DE LA COLECCIÓN CENTRAL COLOMBIANA DE *Solanum phureja*. Sinab, Univ Nac Colomb
- Atkinson NJ, Lilley CJ, Urwin PE (2013) Identification of genes involved in the response of arabidopsis to simultaneous biotic and abiotic stresses. *Plant Physiol* 162:2028–2041. doi: 10.1104/pp.113.222372
- Bak A, Cheung AL, Yang C, et al (2017) A viral protease relocalizes in the presence of the vector to promote vector performance. *Nat Commun* 8:. doi: 10.1038/ncomms14493
- Bernays E and CR (1994) HOST-PLANT SELECTION BY PHYTOPHAGOUS INSECT
- Bidzinski P, Ballini E, Ducasse A, et al (2016) Transcriptional basis of drought-induced susceptibility to the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Front Plant Sci* 7:. doi: 10.3389/fpls.2016.01558
- Bosque-Pérez NA, Eigenbrode SD (2011) The influence of virus-induced changes in plants on aphid vectors: Insights from luteovirus pathosystems. *Virus Res* 159:201–205. doi: 10.1016/j.virusres.2011.04.020
- Boyer JS (2010) Drought decision-making. *J Exp Bot* 61:3493–3497. doi: 10.1093/jxb/erq231
- Bueno J, Cardona C, Chacon P (2005) Fenología, distribución espacial y desarrollo de métodos de muestreo para *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) en habichuela y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Colomb. Entomol.* 31:161–170
- Carr JP, Murphy AM, Tungadi T, Yoon JY (2019) Plant defense signals: Players and

- pawns in plant-virus-vector interactions. *Plant Sci* 279:87–95. doi: 10.1016/j.plantsci.2018.04.011
- Casteel CL, Jander G (2013) New Synthesis: Investigating Mutualisms in Virus-Vector Interactions. *J Chem Ecol* 39:809. doi: 10.1007/s10886-013-0305-0
- Casteel CL, Yang C, Nanduri AC, et al (2014) The NIa-Pro protein of Turnip mosaic virus improves growth and reproduction of the aphid vector, *Myzus persicae* (green peach aphid). *Plant J* 77:653–663. doi: 10.1111/tpj.12417
- CFIBAS (Centro Federal de Investigaciones biológicas para Agricultura y silvicultura) (2001) Estadios de las plantas mono-y dicotiledóneas. *BBCH Monogr* 149
- Chávez P, Zorogastúa P, Chuquillanqui C, et al (2009) Assessing Potato Yellow Vein Virus (PYVV) infection using remotely sensed data. *Int J Pest Manag* 55:251–256. doi: 10.1080/09670870902862685
- Chen G, Su Q, Shi X, et al (2018) Persistently Transmitted Viruses Restrict the Transmission of Other Viruses by Affecting Their Vectors. *Front Physiol*. doi: 10.3389/fphys.2018.01261
- Chen Y, Singh A, Kaithakottil GG, et al (2020) An aphid RNA transcript migrates systemically within plants and is a virulence factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 117:12763–12771. doi: 10.1073/pnas.1918410117
- Chesnais Q, Mauck KE, Bogaert F, et al (2019) Virus effects on plant quality and vector behavior are species specific and do not depend on host physiological phenotype. *J Pest Sci* (2004) 92:791–804. doi: 10.1007/s10340-019-01082-z
- Colvin J, Omongo CA, Govindappa MR, et al (2006) Host-Plant Viral Infection Effects on Arthropod-Vector Population Growth, Development and Behaviour: Management and Epidemiological Implications. *Adv Virus Res* 67:419–452. doi: 10.1016/S0065-3527(06)67011-5
- Cuadros DF, Hernandez A, Torres MF, et al (2017) Vector Transmission Alone Fails to Explain the Potato Yellow Vein Virus Epidemic among Potato Crops in Colombia. *Front Plant Sci* 8:1–8. doi: 10.3389/fpls.2017.01654
- D N Byrne, and T S Bellows J (1991) Whitefly Biology. *Annu Rev Entomol* 36:431–457. doi: 10.1146/annurev.en.36.010191.002243
- Davis TS, Bosque-Pérez NA, Foote NE, et al (2015) Environmentally dependent host-pathogen and vector-pathogen interactions in the Barley yellow dwarf virus pathosystem. *J Appl Ecol* 52:1392–1401. doi: 10.1111/1365-2664.12484
- Eigenbrode SD, Bosque-Pérez N, Davis TS (2018) Insect-Borne Plant Pathogens and Their Vectors: Ecology, Evolution, and Complex Interactions. *Annu Rev Entomol* 63:annurev-ento-020117-043119. doi: 10.1146/annurev-ento-020117-043119
- Fereres A (2015) Insect vectors as drivers of plant virus emergence. *Curr Opin Virol* 10:42–46. doi: 10.1016/j.coviro.2014.12.008

- Fereres A, Moreno A (2009) Behavioural aspects influencing plant virus transmission by homopteran insects. *Virus Res* 141:158–168. doi: 10.1016/j.virusres.2008.10.020
- Fereres A, Peñaflores MFGV, Favaro CF, et al (2016) Tomato infection by whitefly-transmitted circulative and non-circulative viruses induce contrasting changes in plant volatiles and vector behaviour. *Viruses* 8:. doi: 10.3390/v8080225
- Firth D (1995) "Bias reduction of maximum likelihood estimates." *Biometrika* 82:667. doi: 10.1093/biomet/82.3.667-b
- Fraile A, García-Arenal F (2016) Environment and evolution modulate plant virus pathogenesis. *Curr Opin Virol*. doi: 10.1016/j.coviro.2016.01.008
- Franco-Lara JPAGL (2015) Potato virus Y (PVY) Y Potato yellow vein virus (PYVV) EN INFECCIONES MIXTAS NO CAUSAN. 26–37
- Franco-lara L, Rodríguez D (2013) Prevalence of potato yellow vein virus (PYVV) in *Solanum tuberosum* Group Phureja Fields in Three States of Colombia. 324–330. doi: 10.1007/s12230-013-9308-1
- Gallet R, Michalakakis Y, Blanc S (2018) Vector-transmission of plant viruses and constraints imposed by virus–vector interactions. *Curr Opin Virol* 33:144–150. doi: 10.1016/j.coviro.2018.08.005
- Gotz M, Popovski S, Kollenberg M, et al (2012) Implication of *Bemisia tabaci* Heat Shock Protein 70 in Begomovirus-Whitefly Interactions. *J Virol* 86:13241–13252. doi: 10.1128/JVI.00880-12
- Groen SC, Wamonje FO, Murphy AM, Carr JP (2017) Engineering resistance to virus transmission. *Curr Opin Virol* 26:20–27. doi: 10.1016/j.coviro.2017.07.005
- Guzmán-barney M, Franco-lara L, Rodríguez D, et al (2012) Yield Losses in *Solanum tuberosum* Group Phureja Cultivar Criolla Colombia in Plants with Symptoms of PYVV in Field Trials. 438–447. doi: 10.1007/s12230-012-9265-0
- H. Jane Brockmann, Timothy J. Roper, Marc Naguib, Katherine E. Wynne-Edwards JCM and LWS (Eds. . (2010) *Advances in the study of behavior*, 41st edn. Academic press Elsevier Inc, cambridge cb23eb, united kingdom
- He WB, Li J, Liu SS (2015) Differential profiles of direct and indirect modification of vector feeding behaviour by a plant virus. *Sci Rep* 5:. doi: 10.1038/srep07682
- Heinze G, Schemper M (2002) A solution to the problem of separation in logistic regression. *Stat Med* 21:2409–2419. doi: 10.1002/sim.1047
- Hernandez A, Guzmán-barney M (2012) Detección y cuantificación del Potato yellow vein virus (PYVV) en aislamientos de diferentes órganos de *Solanum tuberosum* Grupo Phureja
- IDEAM. Instituto de Hidrología M y EA (2014) ANUARIO CLIMATOLÓGICO 2014. *Bol Clim* 53:1–352. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004

- Jia D, Chen Q, Mao Q, et al (2018) ScienceDirect Vector mediated transmission of persistently transmitted plant viruses. *Curr Opin Virol* 28:127–132. doi: 10.1016/j.coviro.2017.12.004
- Jones DR (2003) Plant viruses transmitted by whiteflies. *Eur. J. Plant Pathol.* 109:195–219
- Kiss ZA, Medina V, Falk BW (2013) Crinivirus replication and host interactions. *Front. Microbiol.* 4
- Kong L, Wu J, Lu L, et al (2014) Interaction between Rice stripe virus disease-specific protein and host PsbP enhances virus symptoms. *Mol Plant* 7:691–708. doi: 10.1093/mp/sst158
- Li H, Liu X, Liu X, et al (2018) Host plant infection by soybean mosaic virus reduces the fitness of its vector, aphid glycines (Hemiptera: Aphididae). *J Econ Entomol* 111:2017–2023. doi: 10.1093/jee/toy165
- Liu B, Pan H, Xie W, et al (2013) Multiple forms of vector manipulation by a plant-infecting virus: *Bemisia tabaci* and Tomato yellow leaf curl virus. *J Virol* 87:4929–4937. doi: 10.1128/JVI.03571-12
- Lu S, Li J, Wang X, et al (2017) A semipersistent plant virus differentially manipulates feeding behaviors of different sexes and biotypes of its whitefly vector. *Viruses* 9:1–15. doi: 10.3390/v9010004
- Mach JM, Castillo AR, Hoogstraten R, Greenberg JT (2001) The Arabidopsis-accelerated cell death gene ACD2 encodes red chlorophyll catabolite reductase and suppresses the spread of disease symptoms. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:771–776. doi: 10.1073/pnas.98.2.771
- Martelli GP, Agranovsky a. a., Bar-Joseph M, et al (2002) The family Closteroviridae revised. *Arch Virol* 147:2039–2044. doi: 10.1007/s007050200048
- Mascia T, Gallitelli D (2016) Synergies and antagonisms in virus interactions. *Plant Sci* 252:176–192. doi: 10.1016/j.plantsci.2016.07.015
- Mauck K, Bosque-Pérez NA, Eigenbrode SD, et al (2012) Transmission mechanisms shape pathogen effects on host-vector interactions: Evidence from plant viruses. *Funct Ecol* 26:1162–1175. doi: 10.1111/j.1365-2435.2012.02026.x
- Mauck KE (2016) Variation in virus effects on host plant phenotypes and insect vector behavior: what can it teach us about virus evolution? *Curr Opin Virol* 21:114–123. doi: 10.1016/j.coviro.2016.09.002
- Mauck KE, Chesnais Q, Shapiro LR (2018) *Evolutionary Determinants of Host and Vector Manipulation by Plant Viruses*, 1st edn. Elsevier Inc.
- Navas-Castillo J, López-Moya JJ, Aranda MA (2014) Whitefly-transmitted RNA viruses that affect intensive vegetable production. *Ann. Appl. Biol.*
- Ng JC, Zhou JS (2015) Insect vector–plant virus interactions associated with non-

- circulative, semi-persistent transmission: current perspectives and future challenges. *Curr Opin Virol* 15:48–55. doi: 10.1016/j.coviro.2015.07.006
- Ng JCK, Falk BW (2006) Virus-Vector Interactions Mediating Nonpersistent and Semipersistent Transmission of Plant Viruses. *Annu Rev Phytopathol* 44:183–212. doi: 10.1146/annurev.phyto.44.070505.143325
- O'Malley MA (2008) "Everything is everywhere: but the environment selects": ubiquitous distribution and ecological determinism in microbial biogeography. *Stud Hist Philos Sci Part C Stud Hist Philos Biol Biomed Sci* 39:314–325. doi: 10.1016/j.shpsc.2008.06.005
- Osorio M, Marques A, Romay G, et al (2016) Adaptación de la técnica RT-PCR para el diagnóstico del virus del amarillamiento de las venas de papa en Venezuela TT - Adaptation of RT-PCR technique for the diagnosis of potato yellow vein virus in Venezuela. *Bioagro* 28:47–52
- Palacios I, Drucker M, Blanc S, et al (2002) Cauliflower mosaic virus is preferentially acquired from the phloem by its aphid vectors. *J Gen Virol* 83:3163–3171. doi: 10.1099/0022-1317-83-12-3163
- Peñaflor MFGV, Mauck KE, Alves KJ, et al (2016) Effects of single and mixed infections of Bean pod mottle virus and Soybean mosaic virus on host-plant chemistry and host–vector interactions. *Funct Ecol* 30:1648–1659. doi: 10.1111/1365-2435.12649
- Perring TM, Stansly PA, Liu TX, et al (2018) *Whiteflies: Biology, Ecology, and Management*. Elsevier Inc.
- Piñeros C (2009) *Recopilación de la investigación del sistema productivo papa criolla*. Fedepapa 152
- Qiao W, Medina V, Falk BW (2017) Inspirations on virus replication and cell-to-cell movement from studies examining the cytopathology induced by lettuce infectious yellows virus in plant cells. *Front Plant Sci* 8:1–13. doi: 10.3389/fpls.2017.01672
- Qiao W, Medina V, Kuo YW, Falk BW (2018) A distinct, non-virion plant virus movement protein encoded by a crinivirus essential for systemic infection. *MBio* 9:1–12. doi: 10.1128/mBio.02230-18
- Rajabaskar D, Bosque-Pérez NA, Eigenbrode SD (2014) Preference by a virus vector for infected plants is reversed after virus acquisition. *Virus Res* 186:32–37. doi: 10.1016/j.virusres.2013.11.005
- Rendon F, Cardona C, Bueno J (2001) Pérdidas causadas por trialeurodes vaporariorum (Homoptera Aleyrodidae) y Thrips palmi (Thysanoptera Thripidae) en habichuela en el Valle del Cauca. *CIAT Artic*
- Rincon DF, Vasquez DF, Rivera-trujillo HF, et al (2019) Economic injury levels for the potato yellow vein disease and its vector , *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera : Aleyrodidae), affecting potato crops in the Andes. *Crop Prot* 119:52–58. doi: 10.1016/j.cropro.2019.01.002

- Ritz C, Baty F, Streibig JC, Gerhard D (2015) Dose-response analysis using R. *PLoS One* 10:1–13. doi: 10.1371/journal.pone.0146021
- Salazar LF, Müller G, Querci M, et al (2000) Potato yellow vein virus: its host range, distribution in South America and identification as a crinivirus transmitted by *Trialeurodes vaporariorum*. *Ann Appl Biol* 137:1–19. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-7348.2000.tb00052>
- Shanker AK, Maheswari M, Yadav SK, et al (2014) Drought stress responses in crops. *Funct Integr Genomics* 14:11–22. doi: 10.1007/s10142-013-0356-x
- Shao HB, Chu LY, Jaleel CA, Zhao CX (2008) Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *Comptes Rendus - Biol* 331:215–225. doi: 10.1016/j.crv.2008.01.002
- Skansi M de los M, Brunet M, Sigró J, et al (2013) Warming and wetting signals emerging from analysis of changes in climate extreme indices over South America. *Glob Planet Change* 100:295–307. doi: 10.1016/j.gloplacha.2012.11.004
- Sukhotu T, Kamijima O, Hosaka K (2006) Chloroplast DNA variation in the most primitive cultivated diploid potato species *Solanum stenotomum* Juz. et Buk. and its putative wild ancestral species using high-resolution markers. *Genet Resour Crop Evol* 53:53–63. doi: 10.1007/s10722-004-0573-1
- Szczepaniec A, Finke D (2019) Plant-Vector-Pathogen Interactions in the Context of Drought Stress. *Front Ecol Evol* 7:1–7. doi: 10.3389/fevo.2019.00262
- Tzanetakis IE, Martin RR, Wintermantel WM (2013) Epidemiology of criniviruses: An emerging problem in world agriculture. *Front Microbiol* 4:1–15. doi: 10.3389/fmicb.2013.00119
- van Roermund HJW, van Lenteren JC (1992) The parasite-host relationship between *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) XXXIV. Life-history parameters of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* as a function of host plant and
- Vargas AM, Rodriguez LE, Oliveros OA (2010) Respuesta de Genotipos de *Solanum tuberosum* Grupo phureja a la infección con Potato yellow vein virus (PYVV).
- Wang A, Zhou X (2016) Current research topics in plant virology
- Wang XW, Li P, Liu SS (2017) Whitefly interactions with plants. *Curr. Opin. Insect Sci.*
- Wei J, Jia D, Mao Q, et al (2018) Complex interactions between insect-borne rice viruses and their vectors. *Curr Opin Virol* 33:18–23. doi: 10.1016/j.coviro.2018.07.005
- Whitfield AE, Falk BW, Rotenberg D (2015) Insect vector-mediated transmission of plant viruses. *Virology* 479–480:278–289. doi: 10.1016/J.VIROL.2015.03.026
- Wu Y, Davis TS, Eigenbrode SD (2014) Aphid behavioral responses to virus-infected plants are similar despite divergent fitness effects. *Entomol Exp Appl*. doi: 10.1111/eea.12246

Zhou JS, Drucker M, Ng JC (2018) Direct and indirect influences of virus–insect vector–plant interactions on non-circulative, semi-persistent virus transmission. *Curr Opin Virol* 33:129–136. doi: 10.1016/j.coviro.2018.08.004