



Virología y Sistemas de detección:  
Marlene **Rosales** [irosalesv@uc.cl](mailto:irosalesv@uc.cl)  
Marcela Paz **Muñoz**  
Estefanía **Fariás**  
Araceli **Vidal**  
Natalia **Vega**

Saneamiento viral:  
Marlene **Gebauer** [mgebauer@uc.cl](mailto:mgebauer@uc.cl)  
Eduardo **Olate**  
Ann **Scott**  
Carolina **Fernández**

Departamento Ciencias Vegetales

# Virus en liliium: La importancia de la sanidad del cultivo





Un proyecto FONDEF-IDeA desarrollado por la Facultad entre los años 2014 y 2016 se dedicó a asegurar la calidad sanitaria de liliium a través de la implementación de herramientas biotecnológicas para la identificación, diagnóstico y saneamiento de virus y patógenos subvirales.

Lilium es una bulbosa de floración estival que ha llegado a transformarse en uno de los cultivos ornamentales más populares en todo el mundo. La producción de lilium representa una actividad comercial importante para Chile, que se posicionó en el 2013 como cuarto exportador mundial de bulbos de flor. La producción de flor de corte también es relevante para el mercado interno chileno, con un aumento en la demanda del producto, debido al crecimiento en la economía nacional y de los ingresos familiares.

La producción de flores se concentra entre la IV y la VI Región de Chile, siendo la V donde se produce un mayor porcentaje. Por su parte, la producción de bulbos de lilium se concentra entre la VIII y la X, presentando un mayor número

de empresas productoras en las regiones XIV y X debido a las condiciones fitosanitarias y ambientales favorables.

El cultivo de lilium puede ser afectado naturalmente por más de 20 virus distintos, siendo *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Lily symptomless virus* (LSV), *Lily mottle virus* (LMoV) y *Lily virus X* (LVX) los más comunes a nivel mundial. La mayoría de estos son propagados por insectos vectores y por inoculación mecánica. Los virus son considerados como una de las principales amenazas en la producción de bulbos y flores de corte de lilium debido a que reducen el rendimiento y la calidad del producto, llegando incluso a provocar pérdidas económicas cuantiosas.

Entre los problemas que causan podemos encontrar anomalías en el de-

sarrollo, afecciones en el crecimiento, alteraciones o aborto floral, defectos en las hojas, entre otros. La amenaza que los virus representan es aún mayor si se considera que las variedades comerciales que se utilizan en Chile se multiplican de forma vegetativa, lo que favorece su dispersión, pues permite que dichos patógenos perduren en los materiales de propagación.

Dado que no se dispone de ningún tratamiento químico dirigido directamente contra el o los virus, que sea capaz de eliminarlos de la planta infectada, se hace necesario contar con técnicas de diagnóstico y de saneamiento in vitro, que permitan disponer de material apto para el mercado interno de flor de corte y para la exportación de bulbos. Para obtener plantas libres de virus existen



Figura 2. Síntomas asociados a virus en hojas de plantas de liliium.

varias técnicas de cultivo de tejidos vegetales o cultivo in vitro. Las más conocidas son el cultivo de meristemas, la termoterapia y la quimioterapia, entre otras.

Durante los años 2014 y 2016 en la Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal de la Pontificia Universidad Católica de Chile ejecutó el proyecto “Aseguramiento de la calidad sanitaria de liliium a través de la implementación de herramientas biotecnológicas para la identificación, diagnóstico y saneamiento de virus y patógenos subvirales (CA13I10208)”, financiado por FONDEF-IDeA. Este proyecto

abordó la problemática aquí planteada, desarrollando investigación en las siguientes áreas:

- A. Sistemas moleculares de detección alta sensibilidad para virus, basadas en el uso de técnicas derivadas del PCR y el uso de sondas no radioactivas.
- B. Técnicas para conocer la prevalencia de los agentes virales en el cultivo de bulbos y flores de corte de liliium, es decir, conocer su distribución e importancia relativa en el país.
- C. Tecnologías asociadas a la metagenómica (o secuenciación masiva) y la bioinformática para actualizar el conocimiento y caracterización de los agentes tipo virus que infectan al cultivo de liliium en Chile.
- D. Saneamiento viral mediante cultivo de meristemas, termoterapia o quimioterapia en las variedades de liliium de interés comercial que se producen en Chile, las que son sometidas a numerosos ciclos de multiplicación, por lo que son susceptibles a ser afectadas por virus y patógenos afines.

### Prospección de virus

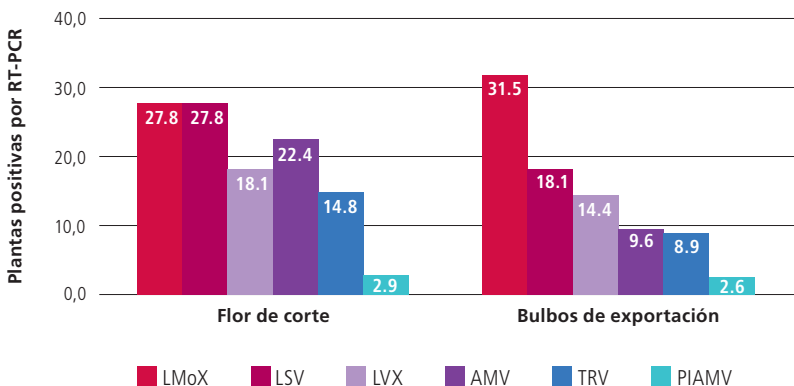
Durante el desarrollo del proyecto se actualizaron los datos relacionados con la situación virológica de este cultivo a nivel nacional y a nivel de mercados. Se determinó mediante la técnica RT-PCR

## Durante este proyecto se optimizaron e implementaron protocolos de saneamiento y erradicación de virus y patógenos afines en diferentes variedades de liliium.

la prevalencia de *Alfalfa mosaic virus* (AMV), *Lily symptomless virus* (LSV), *Lily mottle virus* (LMOV), *Lily virus X* (LVX), *Plantago asiatica mosaic virus* (PIAMV) y *Tobacco rattle virus* (TRV), en muestras prospectadas entre la V y la X regiones de Chile.

De las 502 muestras analizadas, 327 fueron positivas a uno o más de los virus mencionados, lo que corresponde a un 65,1% de muestras infectadas. LMOV, LSV y LVX fueron los virus más representados, con un 27,5, 22,5 y 17,5% de los casos, respectivamente. En cuanto al análisis por mercado, un 72,9% de las muestras resultó estar infectada en el mercado de flores y un 59,3% en el mercado de bulbos de exportación. Los resultados indican que LMOV es el virus más prevalente en el territorio nacional y que el mercado de flores de corte presenta un mayor número de muestras positivas respecto del de bulbos de exportación, lo que está relacionado principalmente con los estrictos requisitos fitosanitarios que se deben cumplir para exportar, hecho que obliga a los productores a mantener menores niveles de virus.

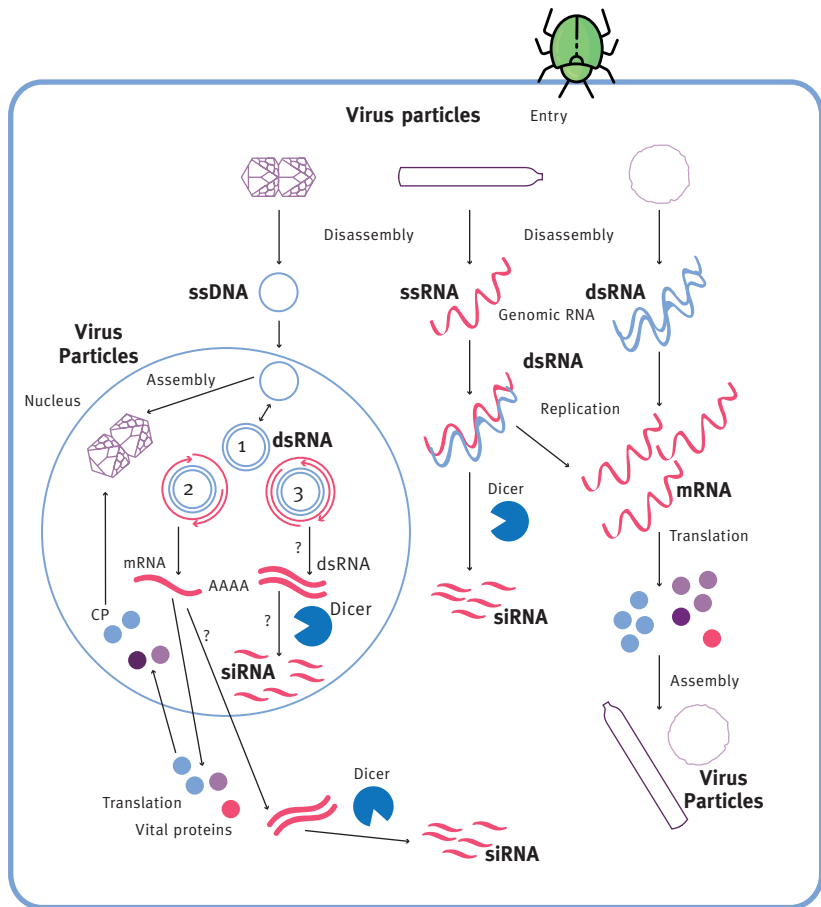
¿Qué es la metagenómica o secuenciación de alto rendimiento aplicado al identificación de agentes virales? En una planta infectada por virus, existe una gran proporción de RNAs pequeños interferentes (siRNAs) originados a partir del genoma viral. Si estos siRNAs son aislados y secuenciados, es posible ensamblar una porción significativa de la secuencia genómica viral, al sobreponer secuencias de siRNAs y usarlas para identificar virus. Esta técnica fue utilizada con éxito durante la ejecución de este



proyecto, identificándose la presencia de numerosos virus, en muestras de bulbos y hojas de liliom. El uso de esta tecnología ya ha sido utilizada en nuestros laboratorios para identificar virus y patógenos afines en especies leñosas, herbáceas, bulbos y tubérculos, por lo que contamos con experiencia para abordar esta problemática en diferentes cultivos.

### Saneamiento viral

Durante este proyecto se optimizaron e implementaron protocolos de saneamiento y erradicación de virus y patógenos afines en diferentes variedades de liliom, utilizando el cultivo de meristemas, la termoterapia, el uso de compuestos antivirales o combinaciones de estas. El uso de estas técnicas ha permitido generar plantas libres de virus de liliom, lo que permitirá producir materiales de propagación libres de estos patógenos, un elemento fundamental si se busca mantener el valor este cultivo ornamental.



(Figura reproducida de Roossinck, et al. (2015) 105: 716-727).

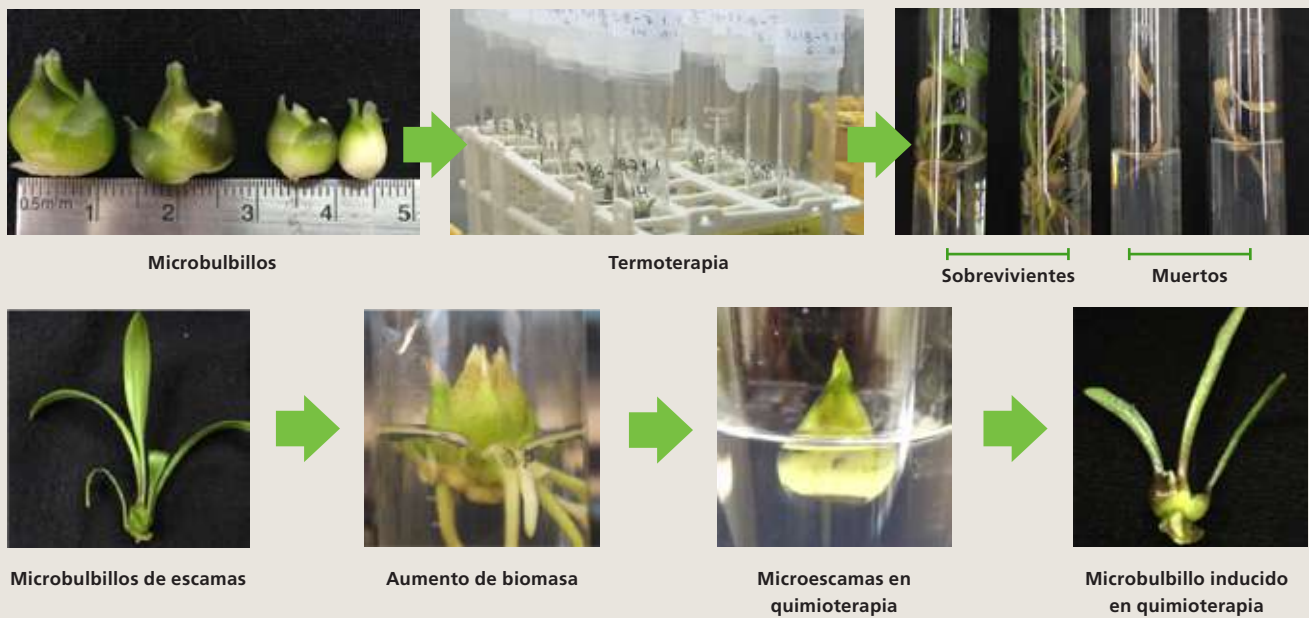


Figura 4. Algunas de las etapas involucradas en el proceso de saneamiento de virus que incluye termoterapia o quimioterapia.