

Diversidad de especies de *Banana streak virus* en híbridos interespecíficos de *Musa* spp. cultivados en Cuba

Diversity of Banana streak virus species on *Musa* sp. interspecific hybrids grown in Cuba

Elisa Javer Higginson¹, Idilio Quiala Rodríguez¹, Maylín Cruz Martín², María del Loreto Reyes Garriga³, Neyda Arencibia Gámez⁴, María Asela Fonseca⁵, Caridad Font Díaz¹, Gloria A. González Arias¹, Ana L. Echemendía Gómez¹ y Pierre Yves Teycheney⁶

¹ Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Calle 110 no. 514 e/ 5ta. B y 5ta. F, Playa, La Habana, ejaver@inisav.cu

² Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal Villa Clara, Carretera de Maleza Km 2½, Santa Clara

³ Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal Cienfuegos, Carretera Palmira Km 3½, Cienfuegos

⁴ Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal Santiago de Cuba, Carretera Siboney Km 5½, La Redonda, Santiago de Cuba

⁵ Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal Granma, Carretera Central vía Holguín, no. 371, Bayamo

⁶ Centre International de Recherche en Agronomie pour le Développement, UPR75, Station de Neufchateau, Sainte-Marie, 97130 Capesterre Belle-Eau, Guadeloupe, FWI.

RESUMEN

En 2009 se detectaron en Cuba las especies de Banana streak virus (BSV): Obino L'Ewai (BSOLV), Goldfinger (BSGFV) e Imové (BSIMV) en muestras de los cultivares FHIA 18, FHIA 21 y FHIA 25. Se conoce que los genotipos AAB y AAAB se infectan con frecuencia con BSV por activación de las secuencias endógenas infecciosas de BSV (eBSVs), integradas en su genoma nuclear. Por tanto, se hizo necesario conocer las especies virus y su distribución en los híbridos interespecíficos que se cultivan en Cuba. Para ello se realizaron prospecciones en zonas de producción de 10 provincias. En cada sitio se colectaron al azar muestras de hojas de plantas con síntomas y asintomáticas, de 13 cultivares de genotipos AAB, AAAB, AABB y ABB. Las muestras se sometieron a Multiplex-IC-PCR con cebadores para las especies BSOLV, BSGFV, Mysore (BSMYV) y BSIMV. Los análisis mostraron la presencia del virus en nueve de las 10 provincias analizadas. La frecuencia de muestras infectadas de las 1409 colectadas fue del 21,4 %, la mayoría provenientes de plantas asintomáticas. Las especies de mayor frecuencia fueron BSOLV y BSGFV, presentes en el 9,0 y 8,2 % del total de muestras analizadas, respectivamente, mientras que BSMYV y BSIMV se detectaron en el 0,1 y 0,4 % de las muestras. Tres híbridos FHIA resultaron los cultivares de mayor frecuencia de infección: FHIA 20 con el 76,9 % (20/26), FHIA 25 con el 46,5 % (20/43) y FHIA 21 con el 42,2 % (225/533), mientras que en FHIA 18 esta fue del 6,9 % (20/291), y en FHIA 03 del 2,8 % (3/10). Los plátanos Macho 3/4 y CEMSA 3/4 alcanzaron una frecuencia de muestras infectadas del 10,3 % (3/29) y 4,9 % (5/102), respectivamente. De los cultivares ABB analizados, solo Pelipita se encontró infectado en un 21,7 % (5/23). Estos resultados demuestran que BSV tiene una alta prevalencia y amplia distribución en los híbridos interespecíficos cultivados en Cuba.

Palabras claves: Enfermedad del rayado del plátano, eBSVs, especies virales.

ABSTRACT

In 2009, Banana streak virus (BSV) species: Obino L'Ewai (BSOLV), Goldfinger (BSGFV) and Imové (BSIMV) were detected in Cuba, on several samples collected from FHIA 18, FHIA 21 and FHIA 25 cultivars. It is known that AAB and AAAB genotypes are prone to infect with BSV due to activation of endogenous infectious BSV (eBSVs) integrated in the nuclear genome. Hence, it was necessary to explore the diversity and distribution of BSV species on interspecific hybrids grown in Cuba. To this aim, surveys were undertaken in production areas of ten provinces. Leaves samples from symptomatic or asymptomatic plants of 13 cultivars of AAB, AAAB, AABB and ABB genotypes, were collected randomly and indexed by multiplex-immunocapture-PCR with primers of species BSOLV, BSGFV, Mysore (BSMYV) and BSIMV. The analysis showed that BSV was present in nine of the ten analyzed provinces. The frequency of the virus in the 1409 collected samples was 21,4 %, the majority originated from asymptomatic plants. The species with the highest frequencies were BSOLV and BSGFV present in 9,0 % and 8,2 % of the samples, respectively while BSMYV and BSIMV were detected in 0,1 % and 0,4 % of the samples. Three FHIA hybrids showed the highest frequencies of infected samples: FHIA 20 with 76,9 % (20/26), FHIA 25 with 46,5 % (20/43) and FHIA 21 with 42,2 % (225/533) while FHIA 18 had a 6,9 % (20/291) of infected samples and FHIA 03 only 2,8 % (3/10). Plantains Macho ¾ and CEMSA ¾ reached 10,3 % (3/29) and 4,9 % (5/102) of infected samples, respectively. Pelipita was the only cultivar among ABB hybrids to be infected with a frequency of 21,7 % (5/23). These results show that BSV has a high prevalence and a wide distribution in interspecific hybrids grown in Cuba.

Key words: Banana streak disease, eBSVs, viral species.

INTRODUCCIÓN

Las musáceas se infectan por un complejo de especies de *Banana streak virus* (BSV), (*Badnavirus*, *Cauli-*

moviridae) que ocasionan la enfermedad del rayado del plátano (Bhat *et al.*, 2016). La virosis ha sido

informada en la mayoría de las áreas productoras a nivel mundial (Carnellosi *et al.*, 2014, Stainton *et al.*, 2015; Kumar *et al.*, 2015; Martínez, 2015; Fort *et al.*, 2017a), incluyendo a Cuba (Jones y Lockhart, 1993, Javer-Higginson *et al.*, 2009). La enfermedad ganó importancia cuando se detectaron secuencias endógenas infecciosas (eBSVs) de las especies BSOLV, BSGFV y BSIMV en el genoma nuclear de *M. balbisiana* (Chabannes *et al.*, 2013). Su expresión provocó, en los últimos 25 años, numerosos brotes en cultivares AAB y AAAB desarrollados por diversos programas de mejoramiento (Ndowora *et al.*, 1999; Dallot *et al.*, 2001; Côte *et al.*, 2010). La activación BSV ha afectado a colecciones de germoplasma de *Musa* spp. de gran valor agronómico, lo cual constituye un obstáculo importante para su intercambio a nivel mundial (Thomas *et al.*, 2015; Musanet, 2016; De Clerck *et al.*, 2017).

Las musáceas son esenciales para la seguridad alimentaria en Cuba. En 2017 su producción fue de 1014,9 millones de toneladas (ONEI, 2017a). Los híbridos interespecíficos de *Musa* spp. ocupan una superficie sembrada de más de 180 000 ha (Dirección de Sanidad Vegetal, 2014; inédito). Sin embargo, el riesgo de diseminación de BSV a través de su cultivo a gran escala ha sido poco estudiado. En este trabajo se determinan las especies de BSV y su distribución en plantaciones de genotipos AAB, AAAB, AABB y ABB cultivados en Cuba como prerrequisito para estimar este riesgo. El incremento del número de cultivares y muestras analizadas, así como la cantidad de áreas de producción visitadas, permitió complementar los trabajos previos realizados para analizar la incidencia y distribución de este complejo de especies de badnavirus en diversos cultivares de *Musa* spp.

MATERIALES Y MÉTODOS

Prospección y colecta de muestras

Entre los años 2009-2012 se realizaron prospecciones en plantaciones de diferentes cultivares de musáceas de los grupos AAAB, AABB, AAB y ABB, situadas en las principales zonas productoras de las provincias de Pinar del Río, Mayabeque, Artemisa, Cienfuegos, Villa Clara, Sancti Spíritus, Ciego de Ávila, Santiago de Cuba, Granma y Guantánamo (Tabla 1).

En cada área se colectaron al azar fragmentos de hojas de plantas con síntomas similares a los causados por

BSV o asintomáticas, y se tomaron los datos del lugar de colecta, el cultivar y el origen del material plantado, así como la presencia o ausencia de colonización por pseudocóccidos.

Detección de BSV mediante Multiplex-IC-PCR

La presencia de BSV en las muestras colectadas se determinó a través de PCR múltiple con inmunocaptura (M-IC-PCR), según el protocolo de Le Provost *et al.* (2006) con modificaciones. Para el PCR se utilizaron los pares de cebadores específicos del dominio RT-RNasa H del ORFIII de las especies BSOLV, BSGFV, BSMYV y BSIMV, combinados en reacciones separadas, con el par de cebadores MonR/MonF, específicos del retrotransposón Monkey del genoma de *Musa* sp. (Gambley, 2008) (Tabla 2).

Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen de 25 μ L, que contenía Tris-HCl (pH 8,4) a 20 mM; KCl a 50 mM, 0,1 mM de cada dNTP; MgCl₂ a 1,5 mM; 0,2 μ M de cada cebador y 1U *Taq* DNA polimerasa (Eurogentech, Seraing, Bélgica).

Las condiciones de PCR consistieron en un paso de desnaturalización inicial de 94 °C por 5 min, seguido de 35 ciclos de 94 °C, 30 segundos, 58 °C, 30 segundos, 72 °C, 30 segundos, y un paso de extensión final de 10 min a 72 °C.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 1409 plantas muestreadas, solo 112 (7,9 %) mostraba síntomas similares a los causados por BSV al momento de la colecta. En varios cultivares se observaron plantas con rayado clorótico discontinuo (Fig. 1 A-C), presente generalmente en una sola hoja de la planta.

Otros síntomas observados fueron la rajadura en la base del pseudotallo (Fig. 1 D), la necrosis de la hoja cigarro (Fig. 1 E), la salida anormal de la inflorescencia en la zona lateral del pseudotallo (Fig. 1 F), así como la rajadura en la cáscara del fruto, los racimos deformes y el retardo o atrofia del crecimiento normal de la planta.

La rajadura en la base del pseudotallo se observó en el 5 % (71/1409), y el rayado clorótico en el 1,8 % (24/1409) de las plantas colectadas, mientras que el 0,6 % (8/1409) presentó ambos síntomas. El total de plantas con otros síntomas no sobrepasó el 1 % del total colectado.

Tabla 1. Total de muestras de musáceas colectadas por provincia

Table 1. Total samples of Musaceae collected by province

Cultivar	Genotipo	Pinar del Río	Artemisa	Mayabeque	Cienfuegos	Villa Clara	Sancti Spiritus	Ciego de Ávila	Granma	Santiago de Cuba	Guantánamo	Total colectado
Burro CEMSA	ABB			46 (0)	25 (0)	5 (0)	25 (0)			23 (0)	54 (0)	178 (0)
Burro Criollo	ABB			1 (0)	9 (0)	3 (0)						13 (0)
Burro Enano	ABB				12 (0)	4 (0)						16 (0)
Manzano Vietnamita	ABB					3 (0)					12 (0)	15 (0)
Pelipita	ABB		1 (1)	8 (0)	11 (0)	3 (0)						23 (1)
FHIA 03	AAAB	3 (0)	13 (0)		31 (0)	41 (0)					19 (0)	107 (0)
FHIA 18	AAAB	31 (2)	69 (1)	12 (0)	29 (0)		29 (0)	15 (0)		84 (0)	22 (3)	291 (6)
FHIA 20	AAAB		20 (2)	6 (2)								26 (4)
FHIA 21	AAAB	40 (17)	19 (0)	63 (24)	220 (47)	52 (2)		20 (0)	50 (0)	45 (1)	24 (6)	533 (97)
FHIA 25	AAB	10 (0)		24 (1)					9 (0)			43 (1)
Macho ¾	AAB									15 (0)	14 (0)	29 (0)
CEMSA ¾	AAB		4 (1)		1 (0)					52 (0)	8 (2)	102 (3)
Manzano INIVIT	AAB					2 (0)					31 (0)	33 (0)
Total		84 (19)	163 (5)	160 (27)	338 (47)	113 (2)	54 (0)	35 (0)	59 (0)	219 (1)	184 (11)	1409 (112)

Entre paréntesis se indican la cantidad de muestras colectadas en plantas con síntomas similares a los causados por BSV.

Tabla 2. Secuencia de nucleótidos de cebadores utilizados en M-IC-PCR para la detección de especies de BSV**Table 2. Nucleotide sequence of primers used in M-IC-PCR for the detection of BSV species**

<i>Secuencia blanco</i>	<i>Cebador</i>	<i>Secuencia (5'-3')</i>	<i>Tamaño del fragmento amplificado (pb)</i>
BSOLV	RD-F1 ^a	ATCTGAAGGTGTGTTGATCAATGC	522
	RD-R1 ^a	GCTCACTCCGCATCTTATCAGTC	
BSGFV	GF-F1 ^a	ACGAACTATCACGACTTGTTC AAGC	476
	GF-R1 ^a	TCGGTGGAATAGTCTTGAGTCTTC	
BSMYV	Mys-F1 ^a	TAAAAGCACAGCTCAGAACAAACC	589
	Mys-R1 ^a	CTCCGTGATTTTCTTCGTGGTC	
BSIMV	IM-F1 ^a	CACCCAGACTTTTCTTTCTAGC	384
	IM-R1 ^a	TGCCAACGAATACTACATCAAC	
Retrotransposon Monkey del genoma de <i>Musa</i> sp.	MonR ^b	GCTGACACATGGGAGGACTT	300
	MonF ^b	CTTGTGGGTCTTCAGAGGAA	

^aGeering *et al.*, 2000, ^bGambley, 2008.-

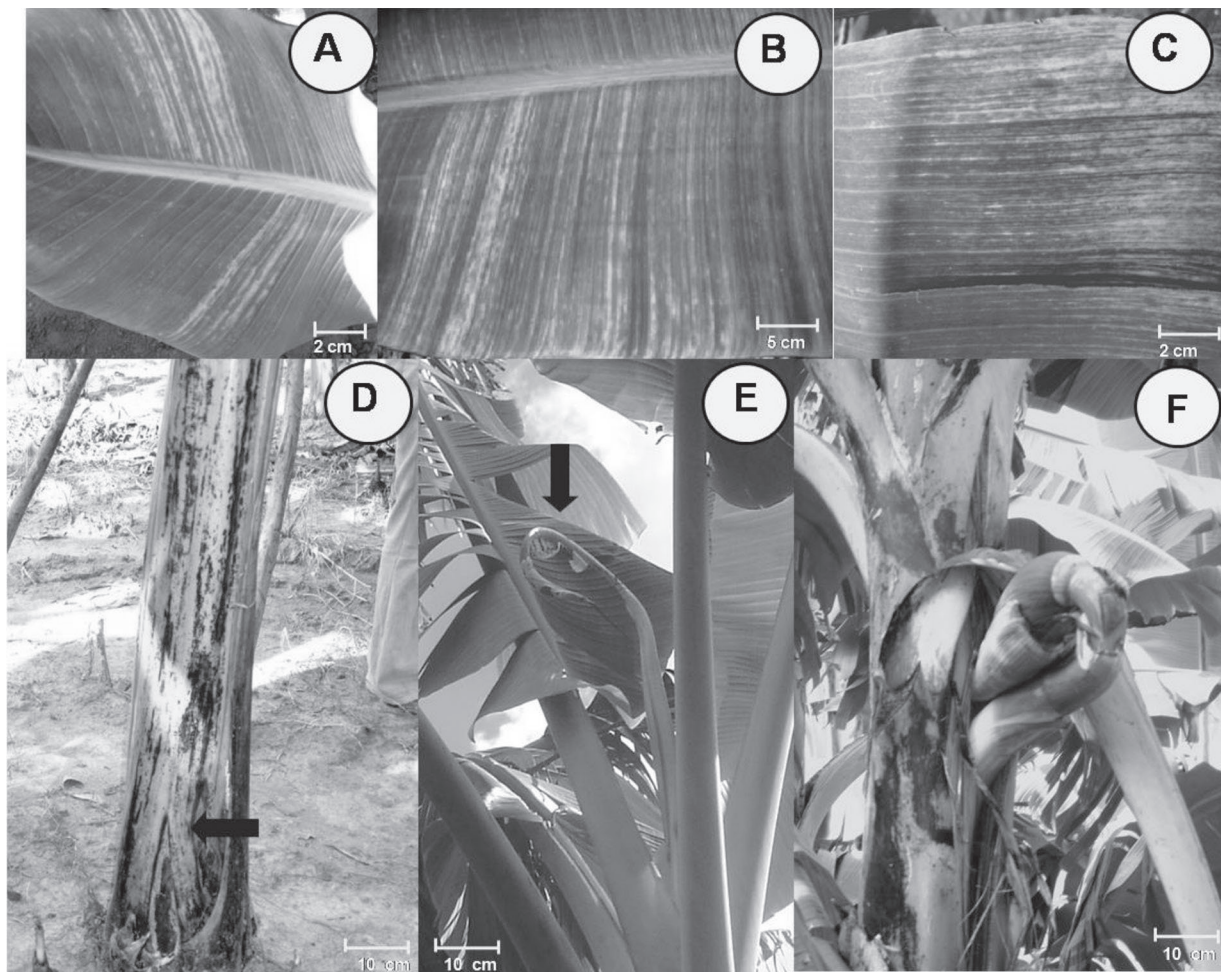


Figura 1. Síntomas de BSV observados en Cuba. A-C: Rayado clorótico discontinuo en hojas de los cultivares CEMSA ¾ (AAB), Güira de Melena (A) FHIA 18, Güira de Melena (B), FHIA 21(AAAB), Rancho Luna, Cienfuegos (C); D, F y G: Síntomas de rajadura en la base del pseudotallo, necrosis de la hoja cigarro y aborto de la inflorescencia del cultivar FHIA 21, respectivamente, observados en Los Palacios, Pinar del Río.

Figure 1. Symptoms of de BSV observed in Cuba. A-C: Discontinuous leaves streaks in cultivars CEMSA ¾ (AAB), Güira de Melena (A) FHIA 18, Güira de Melena (B), FHIA 21 (AAAB), Rancho Luna, Cienfuegos (C); D, F and G: Symptoms of pseudostem base splitting, cigar leaf necrosis and abnormal bunch emergence of cultivar FHIA 21, respectively, observed in Los Palacios, Pinar del Río.

Los análisis mediante M-IC-PCR detectaron BSV en el 21,4 % (301/1409) de las plantas analizadas en muestras provenientes de nueve de las 10 provincias estudiadas (Fig. 2 A). Seis provincias (Pinar del Río, Mayabeque, Artemisa, Cienfuegos, Ciego de Ávila y Granma) alcanzaron frecuencias de infección de más del 20 % de las muestras colectadas (Fig. 2 A).

Ocho de los 13 cultivares analizados en esas provincias estaban infectados con BSV (Fig. 2 B). El híbrido tetraploide FHIA 20 (AAAB) alcanzó un 76,9 % (20/26) de muestras con BSV. Otros cultivares con elevadas frecuencias de infección fueron los híbridos FHIA 25 (AAB) y FHIA 21 (AAAB), que presentaron un total del 46,5 % (20/46) y 42,2 % (225/533) de muestras infectadas, respectivamente.

En FHIA 18 la frecuencia de muestras infectadas fue del 6,9 % (20/291) y en FHIA 03 del 2,8 % (3/10). Los plátanos Machos 3/4 y CEMSA 3/4 alcanzaron frecuencias de infección del 10,3 % (3/29) y 4,9 % (5/102), respectivamente. De los cultivares ABB analizados, solo Pelipita se encontró infectado en un 21,7 % (5/23).

Con relación a lo anteriormente observado en 2009, estos resultados permiten confirmar que la virosis está presente en la mayoría de las provincias a nivel nacional y que tiene una alta prevalencia en las plantaciones de híbridos interespecíficos. Sin embargo, las diferencias en el número de muestras colectadas por provincia y por cultivar no permitió establecer correlaciones significativas entre estas variables y la presencia de BSV.

Solo el 62,5 % (70/112) de las plantas que manifestaban síntomas similares a los que provoca BSV se detectaron infectadas (Tabla 3), situación que ha sido igualmente observada en la India (Sharma *et al.*, 2014) y en República Dominicana (Martínez, 2015). Los síntomas en estas plantas pudieron estar asociados a deficiencias nutricionales (Nelson *et al.*, 2006) o a la presencia de otros organismos como *Cucumber mosaic virus* (CMV) (Thomas, 2015) o *Fusarium* (Pérez-Vicente *et al.*, 2014).

Las plantas pudieron presentar otras especies de BSV no reconocidas con los cebadores especie-específicos utilizados. Una alternativa para la detección de otras especies sería el uso de cebadores genéricos de badnavirus como el par Badna RP//Badna RP (Yang *et al.*, 2003). Sin embargo, estos no se usan en el diagnóstico masivo porque en ocasiones fallan en la detección de determinadas especies de BSV (Iskra-Carruana *et al.*, 2009; Javer-Higginson *et al.*, 2014) y pueden hibridar con retrotransposones del genoma nuclear de la planta (Bhat *et al.*, 2014). En *Musa* spp. existen numerosas copias de estos elementos (Hřibová *et al.*, 2010) que pueden ser reconocidas por los cebadores Badna RP//Badna RP si pequeñas trazas de ADN nuclear quedan remanentes en el pocillo de reacción.

El 17,8 % (231/1297) de las muestras de plantas asintomáticas colectadas resultaron positivas al virus (Tabla 3), lo cual confirma lo observado con anterioridad por otros autores (Dahal *et al.*, 1998; Harper *et al.*, 2002; Wambulwa *et al.*, 2013; Javer-Higginson *et al.*, 2014; Martínez, 2015; Fort *et al.*, 2017a,b) y ratifica que el diagnóstico visual no es un método de detección confiable.

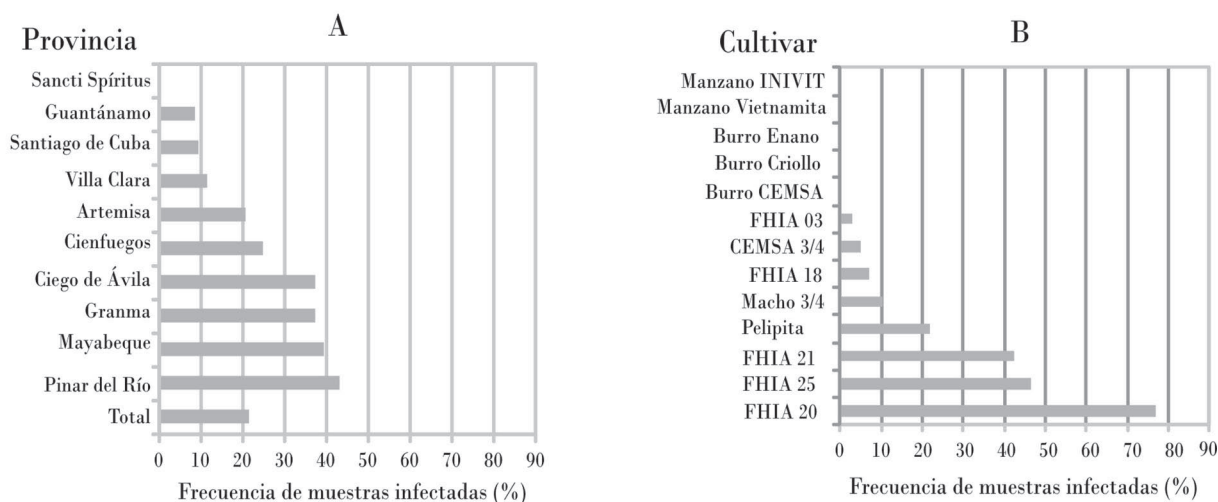


Figura 2. Frecuencia de muestras infectadas con BSV por provincia (A) y por cultivar (B).
 Figure 2. Frequency of BSV infected samples by province (A) and by cultivar (B).

Las especies de BSV más frecuentemente detectadas en las muestras analizadas fueron BSOLV y BSGFV (*Tabla 3*). Se detectaron como infecciones simples en el 9 % (127/1409) y el 8,2 % (116/1409) del total de muestras analizadas, respectivamente.

BSOLV predominó en los híbridos FHIA 21 y FHIA 20, donde alcanzó una frecuencia del 19,7 % (105/533) y 19,2 % (5/26) de muestras infectadas, respectivamente. Estas se originaron para el caso de FHIA 21 en Pinar de Río (2 muestras), Artemisa (2), Mayabeque (24), Cienfuegos (44), Villa Clara (8), Ciego de Ávila (5), Santiago de Cuba (10), Granma (2) y Guantánamo (8), y para el caso del cultivar FHIA 20 en cinco muestras de Artemisa. El cultivar Macho $\frac{3}{4}$ tuvo una frecuencia de muestras infectadas con BSOLV del 10,3 % (3/29) provenientes de Santiago de Cuba (2) y Guantánamo (1). Los demás cultivares Pelipita, FHIA 18, CEMSA $\frac{3}{4}$ y FHIA 03 alcanzaron frecuencias del 4,3 % (1/23); 3,1 % (9/291); 2,9 % (3/102) y 0,9 % (1/107), respectivamente (ver *Tabla 3*). Estas se originaron en el caso de Pelipita en Artemisa (1); FHIA 18: Artemisa (6) Mayabeque (1), Cienfuegos (2); CEMSA $\frac{3}{4}$: Artemisa (2) y Santiago de Cuba (1) y en FHIA 03: Artemisa (1).

El 30,2 % (13/43) de las muestras analizadas de FHIA 25 resultó positivo a BSGFV, las cuales se colectaron en las provincias de Pinar del Río (2), Mayabeque (4) y Granma (7). El cultivar FHIA 20 tuvo una frecuencia de muestras infectadas con BSGFV del 19,2 % (5/26) (*Tabla 3*). Estas se colectaron en las provincias de Artemisa (2) y Mayabeque (3). El cultivar Pelipita alcanzó una frecuencia del 17,4 % (4/23) de muestras infectadas, las cuales se originaron de Mayabeque. FHIA 21 tuvo una frecuencia del 14,8 % (79/533) de muestras infectadas provenientes de Pinar del Río (21), Artemisa (2), Mayabeque (4), Cienfuegos (31), Villa Clara (1), Ciego de Ávila (3), Santiago de Cuba (5) y Granma (12).

FHIA 18 alcanzó un 3,8 % (11/291) de muestras infectadas provenientes de Pinar de Río (3 muestras), Artemisa (2), Mayabeque (1), Cienfuegos (2), Ciego de Ávila (1) y Santiago de Cuba (2), y los cultivares CEMSA $\frac{3}{4}$ y FHIA 03 alcanzaron un 2 % (2/102) y un 1,9 % (2/107) de muestras infectadas procedentes de Artemisa y Santiago de Cuba y de Villa Clara, respectivamente.

La especie BSMYV solo fue detectada como infección simple en una muestra de FHIA 21 colectada en Pinar

del Río. Estos resultados contrastan con el escenario observado en plantaciones del triploides AAA Yangambi km 5 en Cuba (Javer-Higginson *et al.*, 2014), donde BSMYV fue encontrada en una elevada proporción en muestras colectadas en diferentes provincias. A nivel mundial, esta especie infecta de forma crónica al cultivar Mysore (AAB, subgrupo Mysore), donde provoca un característico rayado clorótico y necrótico en la hoja que en un inicio se confundió con un desorden genético. Es probable que estas infecciones se originaran por activación de formas endógenas de la especie (Geering *et al.*, 2005; Iskra-Carruana *et al.*, 2014).

La frecuencia de muestras infectadas con la especie BSIMV no superó el 0,4 % de las muestras analizadas, y se detectó como infección simple en el 11,6 % (5/43) de las muestras de FHIA 25, provenientes de Mayabeque (4) y Pinar del Río (2), no existiendo diferencias con lo informado en 2009 (Javer *et al.*, 2009).

No existen informes de brotes epidémicos con esta especie, solo los ocurridos en Australia (Geering *et al.*, 2011) en los híbridos sintéticos (IRFA 910 y 914, AAB) importados desde el Centro de Cooperación Internacional en Investigaciones Agrícolas para el Desarrollo (CIRAD). Según Geering *et al.* (2011), los brotes ocurridos en esos cultivares pudieron ser el resultado la activación de la secuencia endógena eBSiMV integrada en el genoma de *Musa balbisiana*. BSIMV no ha sido detectada ni en Guadalupe ni en República Dominicana, donde se han llevado cabo prospecciones similares a las realizadas en este trabajo, en áreas de híbridos interespecíficos (Martínez, 2015; Fort *et al.*, 2017a).

Las infecciones mixtas se observaron en el 3,7 % (52/1409) de las muestras analizadas, y la mayoría de estas ocurrió en plantas asintomáticas el 2,5 % (35/1409). De todas, las de mayor frecuencia ocurrieron entre las especies BSOLV y BSGFV; en 10 muestras del cultivar FHIA 20 provenientes de Artemisa, y en muestras de FHIA 21 de Pinar del Río (4), Artemisa (1), Mayabeque (18), Cienfuegos (6), Villa Clara (2), Ciego de Ávila (2), Granma (1) y Guantánamo (5), para un total de 39 (*Tabla 3*). Las otras coinfecciones no superaron el 0,2 % (3/1409) del total de plantas analizadas. La combinación BSOLV-BSGFV-BSMYV ocurrió en una muestra de FHIA 21 de Guantánamo, y la mezcla de BSGFV-BSIMV en dos muestras del cultivar FHIA 25 de Pinar del Río y de Mayabeque.

Tabla 3. Muestras positivas a las especies BSOLV, BSGFV, BSIMV y BSMYV de cada cultivar analizado
Table 3. Positive samples to the BSOLV, BSGFV, BSIMV and BSMYV species of each cultivar analyzed

Cultivar	Asintomáticas										Sintomáticas					Total general	Total de positivas a BSV
	Total	Positivas a BSV					Total	Positivas a BSV									
		BSOLV	BSGFV	BSMYV	BSIMV	BSOLV-BSGFV-BSMYV		BSOLV-BSGFV-BSMYV	BSOLV	BSGFV	BSMYV	BSIMV	BSOLV-BSGFV				
Burro CEMSA	178	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	178	0
Burro Criollo	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0
Burro Enano	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	0
Manzano Vietnamita	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	0
Pelipita	22	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	23	5
FHIA 03	107	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	107	3
FHIA 18	285	8	11	0	0	0	0	0	0	0	6	1	0	0	0	291	20
FHIA 20	22	4	4	0	0	0	9	0	0	0	4	1	1	0	0	26	20
FHIA 21	436	71	66	0	0	23	1	0	0	97	34	13	1	0	16	533	225
FHIA 25	42	0	13	0	5	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	43	20
Macho 3/4	29	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29	3
CEMSA ¾	99	2	2	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	102	5
Manzano INIVIT	33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33	0
Total	1297	89	102	0	5	32	1	2	112	38	14	1	0	17	1409	301	

Las infecciones mixtas con especies de BSV ya habían sido previamente informadas para FHIA 21 (Javer *et al.*, 2009; Martínez, 2015). Estas podrían derivarse de la activación simultánea de secuencias endógenas infecciosas de BSV en el genoma de estos cultivares, y existen evidencias de ello en los estudios desarrollados por Martínez (2015).

No se encontró una correlación significativa entre la presencia e intensidad de síntomas y la presencia de especies de BSV en infecciones simples o mixtas, lo cual concuerda con Martínez (2015). Sin embargo, Karanja *et al.* (2008), Wambulwa (2011) y Wambulwa *et al.* (2013) observaron en Kenya que los síntomas más severos de la enfermedad del rayado del plátano estaban asociados a la presencia de la especie BSMYV, y se intensificaban cuando las plantas estaban infectadas con más de un aislado de BSV, incluyendo la especie *Mysore*.

El análisis de los datos colectados durante las prospecciones mostró que las infecciones con BSV en las muestras no estuvo relacionada con la presencia de pseudocóccidos en las plantaciones. Estos insectos se observaron en 13 de las 68 parcelas de híbridos visitadas a lo largo de todo el país, mientras que el virus se detectó en 33 parcelas, de ellas 25 no tenían pseudocóccidos. Todo ello sugiere que no hay relación entre la infección y la presencia/ausencia de pseudocóccidos tal y como se observó previamente para cultivares triploides AAA (Javer-Higginson *et al.*, 2014).

En un estudio previo se determinó que los cultivares triploides Macho $\frac{3}{4}$ y CEMSA $\frac{3}{4}$ (AAB) y los híbridos tetraploides (AAAB) FHIA 18, FHIA-20 y FHIA-21 son portadores de los alelos infecciosos de las especies BSOLV, BSGFV y no tienen el de la especie BSIMV integrada en el genoma, y el híbrido triploide FHIA 25 (AAB) presenta las secuencias endógenas de las especies BSGFV y BSIMV (Javer-Higginson *et al.*, 2015). La activación de estos alelos en alguna fase del desarrollo de las plantas analizadas explicaría la detección de muestras de estos cultivares infectadas con las especies BSOLV, BSGFV e BSIMV efectuada en este estudio (Tabla 3).

Las diferencias encontradas en las frecuencias de muestras infectadas con cada una de las especies estudiadas en estos cultivares con similar estructura de los alelos de las eBSVs puede ser el resultado de la ocurrencia de mecanismos de expresión diferencial de las eBSVs, observado primariamente por Côte *et al.* (2010) y más recientemente por Martínez (2015) y Fort *et al.* (2017b).

Dentro del conjunto de cultivares analizados, Manzano INIVIT (AAB) no se encontró infectado con BSGFV, BSIMV y BSOLV, y este resultado se relaciona con el perfil de integración de las eBSVs correspondientes en el genoma. Este cultivar no presenta las secuencias endógenas eBSGFV y eBSImV, y porta un alelo modificado de la secuencia eBSOLV (Javer-Higginson *et al.*, 2015). En el futuro habría de evaluarse un número mayor de muestras de este cultivar, procedentes de diversas localidades, para determinar si la secuencia eBSOLV modificada que presenta, tiene carácter infeccioso.

La mayoría de los híbridos ABB estudiados no se encontraron infectados con BSV como era de esperarse para genotipos que tienen un genoma diploide de *Musa balbisiana* en los cuales operan mecanismos de silenciamiento génico que los hacen resistentes a la infección con BSV (Teycheney *et al.*, 2011, Chabannes e Iskra-Caruana, 2013). En los análisis realizados se detectaron muestras infectadas de los cultivares Pelipita (ABB) y FHIA 03 (AABB). Una posible explicación para ello es la presencia de una proporción desbalanceada de genomas de *M. acuminata* y *M. balbisiana* en las células de estos híbridos, la cual se demostró que ocurre en el cultivar Pelipita (D'Hont *et al.*, 2012) y en otros híbridos triploides (Jeridi *et al.*, 2012). Esta representación desproporcionada de los dos genomas pudiera influir en la regulación de la expresión génica de las eBSVs resultante en la relajación de los mecanismos de silenciamiento.

Teniendo en cuenta los resultados de este trabajo, se imponen otras investigaciones que permitirán determinar la magnitud del riesgo de infección con BSV a través del cultivo de híbridos interespecíficos en Cuba. Para ello se hará necesario evaluar en condiciones *in vitro* y de campo la cinética de activación de los alelos infecciosos de las eBSVs. En condiciones de campo se evaluaría el efecto de la infección con BSV en el rendimiento. Estos ensayos permitirán cuantificar el impacto de la presencia de los alelos infecciosos de las eBSVs en la diseminación de BSV y el desarrollo e implementación de estrategias apropiadas para mitigarlo.

REFERENCIAS

- Baranwal, V.K., Sharma S.K., Khurana D., Verma R. 2014. Sequence analysis of shorter than genome length episomal Banana streak OL virus like sequences isolated from banana in India. *Virus Genes*, 48, 120–127.
- Bhat, A. I., Deeshma K. P., Sasi, S., Revathy, K. A., Saji, K. V. 2014. Sequence diversity among badnavirus isolates infecting black pepper and related species in India. *Virus Diseases*, 25 (3), 402–407.

- Bhat, A. I., Hohn T., Selvarajan R. 2016. Badnaviruses: The Current Global Scenario. *Viruses*, 8, 177.
- Carnelossi, P. R., Bijora T., Facco C. U., Silva J. M., Picoli M. H. S., Souto, E. R., de Oliveira, F.T. 2014. Episomal detection of *Banana streak OL virus* in single and mixed infection with *Cucumber mosaic virus* in banana 'Nanicão Jangada'. *Tropical Plant Pathology* 39(4):342-346.
- Chabannes, M., Baurens F. C., Duroy P. O., Bocs S., Vernerey M. S., Rodier-Goud M., Barbe, V., Gayral P., Iskra-Caruana M. L. 2013. Three infectious viral species lying in wait in the banana genome. *Journal of Virology*, 87, 8624-37.
- Chabannes, M., Iskra-Caruana M.L. 2013. Endogenous pararetroviruses, a reservoir of virus infection in plants. *Current Opinion in Virology*, 3,615–620.
- Côte, F. X., Galzi S., Folliot M., Lamagnère Y., Teycheney P.Y., Iskra-Caruana M.L. 2010. Micropropagation by tissue culture triggers differential expression of infectious endogenous Banana streak virus sequences (eBSV) present in the B genome of natural and synthetic interspecific banana plantains. *Molecular Plant Pathology*, 11, 137-144.
- Dahal, G., Hughes J., Thottappilly G., Lockhart B. E. L. 1998. Effect of temperature on symptom expression and reliability of Banana streak badnavirus detection in naturally infected plantain banana (*Musa* spp.). *Plant Disease*, 82 (1), 16-21.
- Dallot, S., Acuña P., Rivera C., Ramírez P., Côte F., Lockhart B. E. L., Caruana M. L. 2001. Evidence that the proliferation stage of micro-propagation procedure is determinant in the expression of Banana streak virus integrated into the genome of the FHIA 21 hybrid (*Musa* AAAB). *Archives of Virology*, 146, 2179-2190.
- De Clerck, C., Crew K., Van den houwel., McMichael L., Berhal C., Lassois L., Haïssam Jijakli M., Roux N., Thomas J.E. 2017. Lessons learned from the virus indexing of *Musa* germplasm: insights from a multiyear collaboration. *Annals of Applied Biology*, 171(1), 15-27.
- D'Hont, A., Denoeud D., Aury J.M. et al. 2012. The banana (*Musa acuminata*) genome and the evolution of monocotyledonous plants. *Nature*, 488, 213-217.
- Jones, D.R., Lockhart, B. E. L. 1993. Banana streak disease. Musa fact sheet No.1. *International Network for Improvement of Banana and Plantain, Montpellier, France*.
- Kumar, P. L., Selvarajan R., Iskra-Caruana M.L., Chabannes M., Hanna, R. 2015. Biology, etiology, and control of virus diseases of banana and plantain. *Advances in Virus Research*, 9,229-269.
- Fort, G., Plaisir K., Dubois C., Teycheney P.Y. 2017a. Prevalence of Banana streak viruses in Guadeloupe. En: *Libro de resúmenes del 16 Reunión de virología vegetal. CIRAD, CNRS, INRA, IRD, SFP. Aussois: CIRAD-CNRS, Francia, p93*.
- Fort, G., Pineau K., Giougou C., Pressat G., Lambert F., Umber, M., Dubois, C., Salmon F., Teycheney P-Y. 2017b. Activation of infectious endogenous Banana streak viruses in banana interspecific varieties under field conditions in Guadeloupe. En: *Libro de resúmenes del 16 Reunión de virología vegetal. CIRAD, CNRS, INRA, IRD, SFP. Aussois: CIRAD-CNRS, Francia, p 62*.
- Gambley, C. F., Geering A. D. W., Steele V., Thomas J. E. 2008. Identification of viral and non-viral reverse transcribing elements in pineapple (*Ananas comosus*), including members of two new Badnavirus species. *Archives of Virology*, 153, 1599-1604.
- Geering, A. W. D., McMichael L. A., Dietzgen R. G., Thomas J. E. 2000. Genetic diversity among Banana streak virus isolates from Australia. *Phytopathology*, 90, 921-927.
- Geering, A., Pooggin, M., Olszewski N., Lockhart B., Thomas J. 2005a. Characterization of Banana streak Mysore virus and evidence that its DNA is integrated in the B genome of cultivated *Musa*. *Archives of Virology*, 150, 787–796.
- Geering, A., Thomas, J.E. 2011. Complete genome sequence of a novel badnavirus, Banana streak IM virus. *Archives of Virology*, 156, 733-737.
- Harper, G., Hull R., Lockhart B. E. L., Olszewski N. 2002. Viral sequences integrated into plant genomes. *Annual Review of Phytopathology*, 40, 119-136.
- Hřibová, E., Neumann P., Matsumoto T., Roux N., Macas J., Doležel J. 2010. Repetitive part of the banana (*Musa acuminata*) genome investigated by low-depth 454 sequencing. *BMC Plant Biology*, 10, 204.
- Iskra-Caruana, M. L., Gayral P., Galzi S., Laboureau N. 2009. How to Control and Prevent the Spread of Banana Streak Disease when the Origin Could Be Viral Sequences Integrated in the Banana Genome? *Acta Horticulturae*, 828,77-84.
- Iskra-Caruana, M.L., Chabannes, M., Duroy, P.O., Muller, E. 2014. A possible scenario for the evolution of Banana streak virus in banana. *Virus research*, 186,155-162.
- Javer-Higginson, E., Acina-Mambole, I., Efrain, J., Font, C., González, G., Echemendía, A.-L., Muller, E., Teycheney, P.-Y. 2014: Occurrence, prevalence and molecular diversity of banana streak viruses in Cuba. *European Journal of Plant Pathology*, 138 (1), 157–166.
- Javer-Higginson, E., Acina-Mambole, I., Quiala, I., Font, C., González, G., Echemendía, A.L., Muller, E., Teycheney, P.Y. (2009). First report of *Banana streak virus* species Goldfinger, Imové, Mysore and Obino l'Ewai in *Musa* spp in Cuba. *Plant Pathology*, 58, 787.
- Javer-Higginson, E., Efraín-González, J., Teycheney, P.Y. 2015. Molecular characterization of endogenous infectious Banana streak virus (eBSV) on interspecific hybrids of banana and plantains in Cuba. *Fitosanidad*. 19 (3).
- Jeridi, M., Perrier X., Rodier-Goud M., Ferchichi A., D'Hont A., Bakry F. 2012. Cytogenetic evidence of mixed disomic and polysomic inheritance in an allotetraploid (AABB) *Musa* genotype. *Annals of botany*, 110 (8), 1593-1606.
- Jones, D.R., Lockhart B. E. L. 1993. Banana streak disease. Musa fact sheet No.1. *International Network for Improvement of Banana and Plantain, Montpellier, France*.
- Karanja, L., Wangai A., Harper G., Pathak R.S. 2008. Molecular identification of *Banana streak virus* isolates in Kenya. *Journal of Phytopathology*, 156,678-686.
- Lassoudière, A. 1974. La Mosaïc dite à tirets' du bananier 'poyo' en Cote d'Ivoire. *Fruits*, 29: 349-357.
- Martínez, T. 2015. Contribution to the assessment of the risk of spreading banana streak viruses (BSVs) in the Dominican Republic through the cultivation of banana interspecific hybrids harbouring infectious endogenous BSV sequences. *Thèse de Doctorat de l'Université des Antilles et de la Guyane, Guadalupe, Francia, 149 pp*.
- Musanet, 2016. Global Strategy for the Conservation and Use of *Musa* Genetic Resources (B. Laliberté, compiler). *Biodiversity International, Montpellier, France, pp226*.
- Ndowora, T., Dahal G., LaFleur D., Harper H., Hull R., Olszewski N. E., Lockhart B. 1999. Evidence that badnavirus infection in *Musa* can originate from integrated pararetroviral sequences. *Virology*, 255, 214-220.
- Nelson, S.C., Ploetz R.C., Kepler. A.K. 2006. *Musa* species (bananas and plantains), ver. 2.2. En: Elevelitch, C.R. (ed.). *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry*. Permanent Agriculture Resources (PAR), Holualoa, Hawai'i. <http://www.traditionaltree.org>.
- ONEI. 2017. Anuario estadístico de Cuba: Sector agropecuario indicadores seleccionados. Enero - diciembre de 2017. Edición Mayo 2018. P4. http://www.one.cu/publicaciones/05agropecuario/ppalesindsectoragrop_lppales_inddic17.
- Pérez-Vicente, L., Dita M.A., Martínez-de la Parte E. 2014. Technical Manual: Prevention and diagnostic of Fusarium Wilt (Panama disease) of banana caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 (TR4). *Prepared for the FAO/CARDI Regional Workshop on the Diagnosis of Fusarium Wilt (Panama disease) caused by Fusarium*

- oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4: Mitigating the Threat and Preventing its Spread in the Caribbean. University of West Indies, Trinidad and Tobago, 5-9 May 2014. 75 pp. <http://www.fao.org/agriculture/crops/news-events-bulletins/detail/en/item/235419>
- Sharma, S. K., Kumar P. V., Poswal R., Geetanjali A. S., Prabha K., Jain R. K., Rai R., Baranwal, V. K. 2014. Occurrence and distribution of banana streak disease and standardization of a reliable detection procedure for routine indexing of banana streak viruses in India. *Scientia Horticulturae*, 179 (2014), 277–283.
- Stainton D., Halafih M., Collings D. A., Varsani A. 2015. Genome Sequence of Banana Streak MY Virus from the Pacific Ocean Island of Tonga. *Genome Announcements*, 3(3), 00543-15.
- Teycheney, P. Y., & Geering A.D.W. 2011. Endogenous viral sequences in plant genomes, p 343–362. In: Caranta, C., Aranda, M.-A., Tepfer, M., Lopez-Moya, J.-J, (eds). *Recent Advances in Plant Virology*. Caister Academic Press.
- Thomas, J. E. 2015. *MusaNet Technical Guidelines for the Safe Movement of Musa Germplasm*. 3rd Edition, Bioversity International, Roma.
- Thomas, J.E., Iskra Caruana M.-L., Lava Kumar P., Roux N., Chabannes M., Massart S., Mathieu Y., Chase R., Van den Houwe I. 2015. Position paper on a strategy to distribute banana (*Musa*) germplasm with endogenous Banana streak virus genomes En: www.musanet.org, (fecha del último acceso 14 de agosto de 2017).
- Wambulwa, 2011. Molecular detection of banana viruses in germplasm from selected areas in Kenya. A Research Thesis Submitted to the Graduate School in Partial Fulfillment for the Requirements of the Master of Science Degree in Biochemistry of Egerton University, Kenya, 73 pp.
- Wambulwa, F. N., Karanja, L.S., Kiarie, S.M., Muturi, S.M. 2013. The influence of host and pathogen genotypes on symptom severity in banana streak disease. *African Journal of Biotechnology*, 12(1), 27-31.
- Yang, I. C., Hafner G. J., Revill P. A., Dale J. L., Harding R. M. 2003. Sequence diversity of South Pacific isolates of taro bacilliform virus and the development of a PCR-based diagnostic test. *Archives of Virology*, 148, 1957-1968.
- Yot-Dauthy, D., Bové J.M. 1966. Mosaïque du bananier. Identification et purification de diverses souches du virus. *Fruits*, 21, 449-465.