Caracterización parcial de un potexvirus aislado de *Musa coccinea* afectada por rayado necrótico en Colombia

Partial characterization of a potexvirus isolated from a *Musa coccinea* plant affected by necrotic streak in Colombia

Helena Reichel[1], Maritza Cuervo[2] y Francisco J. Morales[3]

RESUMEN

Se observaron síntomas de rayado necrótico en las hojas de una planta de *Musa coccinea* (banano escarlata), procedente de Antioquia (Colombia). Mediante inmunocaptura, transcripción reversa y reacción en cadena de la polimerasa (IC-RT-PCR), se amplificó un fragmento de aproximadamente 377 pares de bases, con una identidad de secuencia de aminoácidos de 57% con el gen de la cubierta proteica del *Alstroemeria virus X* [AlsVX, AB206396] del género *Potexvirus*. Este es el primer reporte de un potexvirus en *M. coccinea*. El análisis comparativo de la 3'UTR del potexvirus aislado de *M. coccinea* con el correspondiente del AlsVX muestra que estos dos virus difieren significativamente en esta región, lo que sugiere que el potexvirus aislado de *M. coccinea* en Colombia es una nueva especie del género *Potexvirus*. Se propone el nombre de virus de la raya necrótica del banano escarlata (*Scarlet banana necrotic streak virus* [SBanNSV]) para este virus aislado de *M. coccinea* en Colombia.

Palabras clave: banano escarlata, cubierta proteica, *Flexiviridae*, SBanNSV, 3'UTR.

ABSTRACT

Necrotic streak symptoms were observed on the leaves of a *Musa coccinea* (scarlet banana) plant from Antioquia (Colombia). Immune capture reverse transcription polymerase chain reaction (ICRT-PCR) amplified a DNA fragment of approximately 377 base pairs showing amino acid sequence identities of 57% with the coat protein of *Alstroemeria virus X* [AlsVX, AB206396] genus *Potexvirus*. This is the first report of a potexvirus infecting *M. coccinea*. Alignments of the 3'UTRs of the *M. coccinea* potexvirus and AlsVX showed that these two viruses differ in a significant way in this region, which suggests that the potexvirus isolated from *M. coccinea* in Colombia is a new specie in the genus *Potexvirus*. We propose the name of Scarlet banana necrotic streak virus (SBanNSV) for the potexvirus that was isolated from *M. coccinea*.

Key words: scarlet banana, protein coat, *Flexiviridae*, SBanNSV, 3'UTR.

Introducción

Musa coccinea, conocida como 'banano escarlata', es una especie ornamental de la familia Musaceae (Jones, 2000), nativa de China (Liu et al., 2002). *M. coccinea* se encuentra ampliamente distribuida en el mundo, incluidos Colombia (Villegas *et al*., 2005) y Brasil (Lins y Coelho, 2004) en América del Sur. El único patógeno viral anteriormente descrito para esta especie en Colombia es el virus del mosaico del pepino (*Cucumber mosaic virus* [CMV]) (Villegas *et al*., 2005). En septiembre 25 de 2001 se observó una planta de *M. coccinea* afectada por el síntoma del rayado necrótico en las hojas (figura 1), en el departamento del Antioquia (Colombia).

El objetivo de este estudio fue determinar la etiología de la enfermedad de *M. coccinea* e investigar su posible relación con los virus aislados anteriormente de *Musa spp.* en Colombia, como el CMV (Castaño *et al*., 1994a y 1994b; Reichel *et al*., 1995a y 1995b; Reichel *et al*., 1996a; Belalcázar *et al*., 1996; Mariño, 1997; Escobar y Martínez, 1997; Martínez, 2002a), el virus del rayado del banano (*Banana streak virus* [BSV]) (Reichel *et al*., 1996b; Reichel *et al*., 1996c; Corpoica, 1996; Belalcázar *et al*., 1998), y el virus del mosaico atenuado del banano (*Banana mild mosaic virus* [BanMMV]) (Reichel, 2002; Martínez 2002a; Martínez *et al*., 2002b; Reichel *et al*., 2003 y 2004; Martínez, 2005). Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Virología Vegetal del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), en Palmira (Colombia).

Fecha de recepción: abril 10 de 2008. Aceptado para publicación: julio 10 de 2008

[1] Investigadora, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), C.I. Tibaitatá, Mosquera (Colombia). hreichel@rocketmail.com
[2] Laboratorio de Sanidad Vegetal, Unidad de Recursos Genéticos, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira (Colombia). mcuervo@cgiar.org.
[3] Jefe, Unidad de Virología Vegetal, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira (Colombia). fmorales@cgiar.org

AGRONOMIA 26-2 -PROFE194).indd 285 06/10/2008 19:40:59

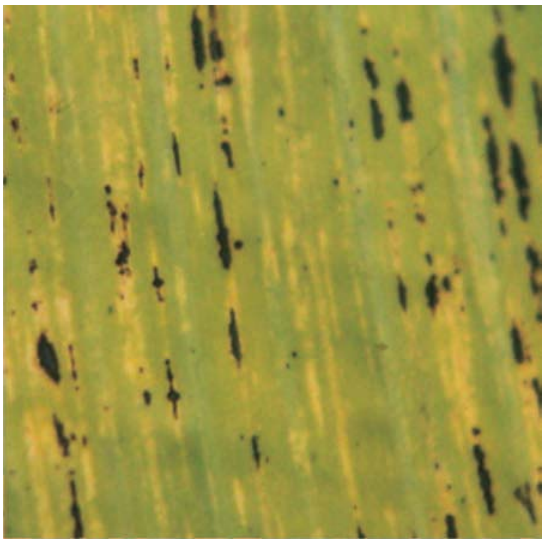

FIGURA 1. Síntomas de rayado necrótico en hoja de *Musa coccinea,* proveniente de Antioquia (Colombia).

Materiales y métodos

Aislamiento del virus, IC-RT-PCR, clonación y secuenciación

Se utilizó una hoja de *M. coccinea* como fuente del agente causal. Para amplificar parte del gen de la cubierta proteica (*CP*) y la región 3' no codificante, conocida en inglés como *untranslated region* (UTR), se utilizó el método de inmunocaptura, transcripción reversa y reacción en cadena de la polimerasa (IC-RT-PCR) (Sharman *et al*., 2000). La síntesis de ADNc se realizó según el método de Sharman *et al.* (2000), con leves modificaciones. La mezcla del ADNc consistió de 30 pmol del iniciador degenerado Poty 1 (Gibbs y Mackenzie, 1997), 20 unidades (U) de RNaseOUT recombinant ribonuclease inhibitor (Gibco, BRL), 4 µL de $MgCl_2$ 25 mM, 2 µL de dNTPs 10 mM (Promega), 4 µL de DTT 100 mM (Gibco, BRL), 200 U de transcriptasa reversa Super Script II (Gibco, BRL) y ca. 3 U de *E. coli* RNase H, en un volumen final de reacción de 40 µL.

La mezcla de la PCR consistió de 2,5 µL de tampón 10X PCR, 2 mM $MgCl_2$, 200 µM de cada dNTP (Invitrogen), 10 pmol del iniciador degenerado Poty1 (Gibbs y Mackenzie, 1997), 30 pmol del iniciador degenerado DCCP (5'-TATGCNGCNTTYGAYTTCTTRGAYG-3'), 1 U de polimerasa Taq (AmpliTaq DNA polymerase, Perkin Elmer), 2 µL del template de la síntesis del cDNA y agua destilada estéril, para un volumen final de reacción de aproximadamente 25 µL. La PCR (Saiki *et al*., 1988) se realizó en un termociclador PTC-100 (MJ Research), con el siguiente programa: 94 °C/1 min; 94 °C/20 s; 56 °C/1 min; 72 °C/1 min; por 35 ciclos y un ciclo final de 72 °C/3 min.

El producto de la PCR se purificó usando el *kit* Magic PCR DNA Purification System (Promega), según las instrucciones del fabricante y luego se clonó en la cepa INVα F' de *E. coli*, utilizando como vector el plásmido pCR 2.1 del *kit* TA Cloning (Invitrogen), según las instrucciones del fabricante. Las colonias de *E. coli* se establecieron en el medio selectivo Luria-Bertani-agar (Sambrook *et al*., 1989) con ampicilina, X-Gal y el inductor IPTG, para seleccionar los clones recombinantes. Se realizó una PCR con los iniciadores M13 y T7, usando las colonias blancas, para identificar las colonias que contenían el plásmido recombinante; los productos amplificados se analizaron por electroforesis en un gel de agarosa al 1%, usando bromuro de etidio. El ADN plasmídico se purificó usando el *kit* Wizard Miniprep DNA Purification Systems (Promega). Para determinar la presencia del inserto en el plásmido recombinante, se realizaron digestiones con la enzima de restricción EcoRI, usando 12 U de enzima (Promega) con 3 µL del ADN plasmídico purificado, en un volumen final de reacción de 20 µL. Las digestiones se llevaron a cabo a 37 °C por cerca de 2 h en el tampón de restricción del fabricante. Los productos de

TABLA 1. Porcentaje de identidad a nivel de aminoácidos entre la secuencia parcial de la cubierta proteica del potexvirus aislado de *M. coccinea* en Colombia, del *Alstroemeria virus X* [AlsVX, AB206396], *Narcissus mosaic virus* [NMV, AY225449], *Lettuce virus X* [AM745758] y *Asparagus virus 3* [AV-3, AB304848], usando el programa DNAMAN.

Virus	*M. coccinea* potexvirus	AlsVX	NMV	*Lettuce virus X*	AV-3
M. coccinea potexvirus	–				
AlsVX	50,00% (36/72)	–			
NMV	48,61% (35/72)	88,00% (66/75)	–		
Lettuce virus X	47,22% (34/72)	76,00% (57/75)	74,67% (56/75)	–	
AV-3	44,44% (32/72)	81,33% (61/75)	86,67% (65/75)	72,00% (54/75)	–

AGRONOMIA 26-2 -PROFE194).indd 286 06/10/2008 19:41:01

las digestiones se analizaron por electroforesis en un gel de agarosa al 1%, teñido con bromuro de etidio.

Se utilizó un secuenciador automático ABI Prism 377 DNA (Perkin-Elmer). Las secuencias obtenidas se analizaron con los programas Sequencher 4.0 (Gene Codes Corporation), BLAST (NCBI, NIH) y DNAMAN versión 5.2.10 (Lynnon BioSoft).

Se realizaron análisis comparativos de los alineamientos múltiples de las secuencias parciales de aminoácidos encontradas en la región C-terminal de la *CP* del virus aislado de *M. coccinea* en Colombia con las correspondientes secuencias parciales de la *CP* de *Alstroemeria virus X* [AlsVX, AB206396] y del *Narcissus mosaic virus* [NMV, AY225449], *Lettuce virus X* [AM745758], *Banana mild mosaic virus* [BanMMV, AF314662], *Cherry necrotic rusty mottle virus* [CNRMV, NC_002468] y *Citrus leaf blotch virus* [CLBV, AJ318061], de la familia *Flexiviridae* (Adams *et al*., 2004; Fauquet *et al*., 2005; Martelli *et al*., 2007).

Resultados y discusión

Análisis moleculares

Se amplificó un fragmento de aproximadamente 377 pb (figura 2a, carril 1) y se obtuvo un plásmido recombinante en una colonia de *E. coli* mediante la PCR con el par de iniciadores (*primers)* M13 y T7 (figura 2b, carril 1). La digestión de ADN plasmídico recombinante con la enzima de restricción *Eco* RI reveló la presencia del inserto (figura 2c).

El análisis con el programa TBLASTX del fragmento amplificado mostró una identidad de secuencia de aminoácidos de 50%-57% con las *CP* de los potexvirus *Alstroemeria virus X* [AlsVX, AB206396], *Narcissus mosaic virus* [NMV, AY225449], *Lettuce virus X* [AM745758] y *Asparagus virus 3* [AV-3, AB304848].

La región amplificada de la *CP* del potexvirus aislado de *M. coccinea* (localizada en la región 3' terminal del ORF5), está formada por 220 nucleótidos, incluido el codón de terminación TGA. La composición parcial de la *CP* del potexvirus aislado de *M. coccinea* tiene la composición: 25,9% A; 33,6% C; 22,7% G; 17,3% de T y 0,5% de otros (figura 3).

La secuencia parcial de 220 nucleótidos de la *CP* del potexvirus aislado de *M. coccinea* codifica para 72 aminoácidos (figura 4).

En el análisis comparativo del alineamiento múltiple de las secuencias parciales de aminoácidos de la *CP* del potexvirus aislado de *M. coccinea*, con las correspondientes secuencias parciales del *CP* de AlsVX [AB206396], AV-3 [AB304848], NMV [AY225449], *Lettuce virus X* [AM745758], CNRMV [NC_002468] y BanMMV [AF31462], se observaron 11 aminoácidos conservados (figura 5).

El motivo conservado TGG para una proteasa de treonina se encuentra en la *CP* de BanMMV (Gambley y Thomas, 2001) y de CNRMV, pero no, en el *CP* del potexvirus aislado de *M. coccinea*, AlsXV [AB206396], NMV ó AV-3.

Del árbol de homología se concluye que las secuencias parciales de aminoácidos de la *CP* del potexvirus aislado de *M. coccinea* comparte más similitudes con la región correspondiente a la *CP* de AlsVX, NMV y *Lettuce virus X* ó AV-3 (figura 6).

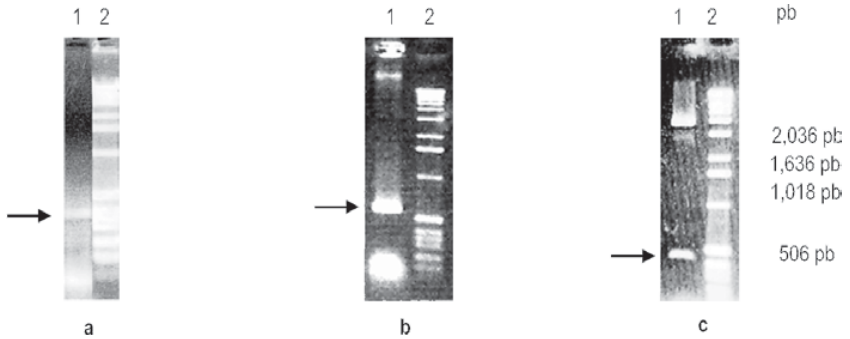

FIGURA 2. a) Carril 1: fragmento amplificado (ca. 377 bp) por IC-RT-PCR con el par de iniciadores DCC/Poty1 de un potexvirus aislado de *Musa coccinea*, procedente de Antioquia (Colombia); carril 2: marcador de peso molecular 1 Kb DNA Ladder (Gibco, BRL). b) Análisis electroforético, en un gel de agarosa al 1%, del producto de la PCR con los iniciadores M13 y T7. Carril 1: producto amplificado por la PCR, de una colonia de *E. coli* transformada con el inserto del potexvirus, aislado de *M. coccinea*; carril 2: marcador de peso molecular 1 Kb DNA Ladder (Gibco,BRL). c) Electroforesis de la digestión con EcoRI del plásmido recombinante ADN purificado, conteniendo el inserto de un potexvirus aislado de *M. coccinea*, proveniente de Antioquia (Colombia). Carril 1: clon recombinante que contiene un sitio de restricción para EcoRI; carril 2: marcador de peso molecular 1Kb DNA Ladder (Gibco, BRL).

AGRONOMIA 26-2 -PROFE194).indd 287 06/10/2008 19:41:02

```
M. coccinea potexvirus, CP NT
220 bp;
Composition  57 A; 74 C; 50 G; 38 T; 1 OTHER
Percentage:  25.9%  A; 33.6%  C; 22.7%  G; 17.3%  T; 0.5%OTHER
Molecular Weight (kDa): ssDNA: 67.54 dsDNA: 135.65
ORIGIN
1      CGACTTCTTA GACGCTGTGC TCTCCCCTGC CGCTCTCAAC NCAGCTGGTG
GCCTGGTCAG
61     ACAACCGACT GACAAAGAAA TCCAGGCGCA CCAAGTCAAC AAGTATGTCG
CCATAACGCG
121    TGCCAACCAA ACTCGCGGCA ACTTGCTGTC CACCCTGGCC GAAGTCACGA
AAGGTAAACA

181    TGGTCAACTG CCTACCATCA CAATGGAGGC GCCCCCGTGA
```

FIGURA 3. Composición de la secuencia parcial de la *CP* del potexvirus aislado de *M. coccinea,* procedente de Antioquia (Colombia).

```
Translation M.coccinea potexvirus
CP NT(1-220)
Universal code
Total amino acid number: 72, MW=7533
Max ORF starts at AA pos 1(may be DNA pos 2) for 72 AA(216 bases),
MW=7533
1        CGACTTCTTAGACGCTGTGCTCTCCCCTGCCGCTCTCAACNCAGCTGGTGGCCTGGTCAG
1          D  F  L  D  A  V  L  S  P  A  A  L  N  X  A  G  G  L  V  R

61       ACAACCGACTGACAAAGAAATCCAGGCGCACCAAGTCAACAAGTATGTCGCCATAACGCG
21         Q  P  T  D  K  E  I  Q  A  H  Q  V  N  K  Y  V  A  I  T  R

121      TGCCAACCAAACTCGCGGCAACTTGCTGTCCACCCTGGCCGAAGTCACGAAAGGTAAACA
41         A  N  Q  T  R  G  N  L  L  S  T  L  A  E  V  T  K  G  K  H

181      TGGTCAACTGCCTACCATCACAATGGAGGCGCCCCCGTGA
61         G  Q  L  P  T  I  T  M  E  A  P  P
```

FIGURA 4. Traducción de la secuencia parcial de la *CP* del potexvirus aislado de *M. coccinea*, localizada en la parte terminal de la *CP.*

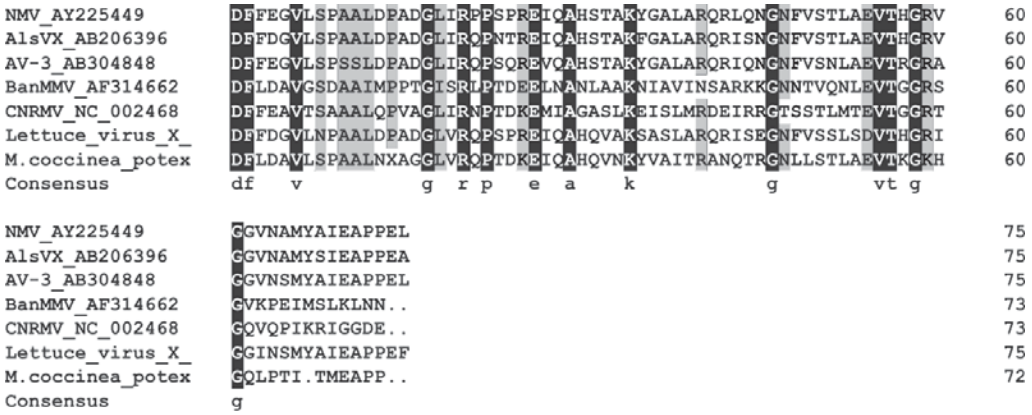

FIGURA 5. Alineamiento múltiple de las secuencias parciales de aminoácidos del *CP* del potexvirus aislado de *M. coccinea* y las correspondientes regiones de la *CP* de NMV, AlsVX, AV-3, BanMMV, CNRMV y *Lettuce virus X*. Nivel de homología de 100% indicado por cajas negras y de >75% indicado por cajas grises.

Un análisis comparativo, mediante alineamiento múltiple de las secuencias parciales de aminoácidos, de la *CP* del potexvirus aislado de *M. coccinea* con la correspondiente región del AlsVX [AB206396], NMV [AY225449], *Lettuce virus X* [AM745758] y AV-3 [AB304848], reveló la presencia de 32 secuencias de aminoácidos totalmente conservadas y altos niveles de homología (>75%), indicando que las secuencias de aminoácidos de la *CP* del potexvirus aislado de *M. coccinea* en Colombia tiene muchas características en común con la *CP* de los potexvirus AlsVX, NMV y *Lettuce virus X* (figura 7).

El motivo DF(F/L)(D/E)(G/A)VL(S/N) encontrado en la *CP* del potexvirus aislado de *M. coccinea* en Colombia, del AlsVX, NMV, AV-3 y *Lettuce virus X* es similar al encontrado en la *CP* de otros virus flexuosos de plantas (Gambley y Thomas, 2001, Henderson *et al*., 1992; Dolja *et al*., 1991, Rustici *et* al., 2000) y probablemente tiene una función en

AGRONOMIA 26-2 -PROFE194).indd 288 06/10/2008 19:41:03

las interacciones del RNA con la *CP* (Rustici *et al*., 2000; Gentit *et al*., 2002).

El análisis comparativo entre los aminoácidos de la secuencia parcial de la *CP* del potexvirus aislado de *M. coccinea*, AlsVX, NMV y AV-3 (tabla 1) mostró el valor más alto de porcentaje de identidad de aminoácido (88%) entre AlsVX y NMV. Un valor alto (50%) de porcentaje de identidad de aminoácidos se encontró entre la *CP* del potexvirus aislado de *M. coccinea* y la *CP* de AlsVX.

Se realizó el alineamiento múltiple de secuencias de nucleótidos de la 3'UTR del potexvirus aislado de *M. coccinea,* con la 3'UTR del BanMMV [AF314662], usando el programa DNAMAN (figura 8).

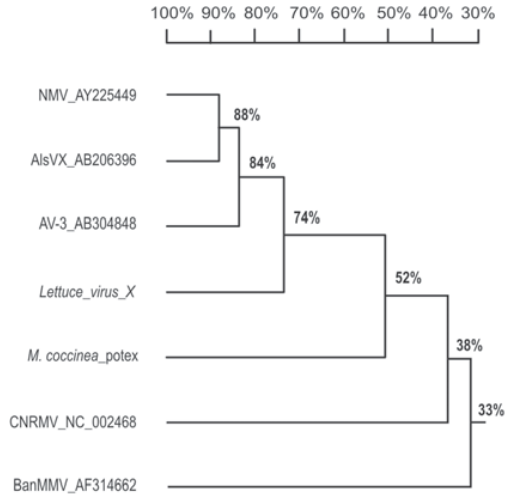

FIGURA 6. Árbol de homología obtenido del alineamiento múltiple de secuencias de aminoácidos de secuencias parciales del potexvirus aislado de *M. coccinea* (*M. coccinea* potex en esta figura), NMV, AlsVX, AV-3, *Lettuce virus X*, CNRMV y BanMMV en esta figura.

La región 3'UTR del potexvirus aislado de *M. coccinea* y la del BanMMV AF314662 difieren en tamaño (140 nts y 77 nts, respectivamente) y en varias regiones que no son conservadas entre ellos. Sin embargo, se observan motivos conservados que pueden estar involucrados en funciones fundamentales de estos virus, como en la replicación.

Un análisis comparativo del alineamiento múltiple de las secuencias de nucleótidos de la 3'UTR del potexvirus aislado de *M. coccinea* de Colombia con las de la 3'UTR de AlsVX [AB206396], reveló la presencia de 28 nucleótidos totalmente conservados (figura 9), que están involucrados probablemente en funciones de replicación.

Las regiones 3'UTR del potexvirus aislado de *M. coccinea* y del AlsVX difieren en tamaño (140 nts y 77 nts, respectivamente), y el análisis comparativo mostró variabilidad molecular en varias regiones de ellos. Este análisis comparativo de la 3'UTR del potexvirus aislado de *M. coccinea* con la 3'UTR del AlsVX muestra que estos dos virus difieren significativamente en esta región, lo que sugiere que el potexvirus aislado de *M. coccinea* en Colombia es una nueva especie del género *Potexvirus*.

Conclusiones

Este estudio mostró que *M. coccinea* en Colombia es afectada por un potexvirus aparentemente nuevo, similar pero diferente al AlsVX y al NMV. Se propone el nombre de virus de la raya necrótica del banano escarlata (*Scarlet banana necrotic streak virus* [SBanNSV]) para este virus aislado de *M. coccinea* en Colombia. El impacto económico de este virus en especies de *Musa* cultivadas se desconoce. Se recomienda proseguir la caracterización molecular y biológica de este virus, para poder determinar su modo de transmisión, rango de hospederos, distribución geográfica, etc., con el fin de tomar medidas de control adecuadas.

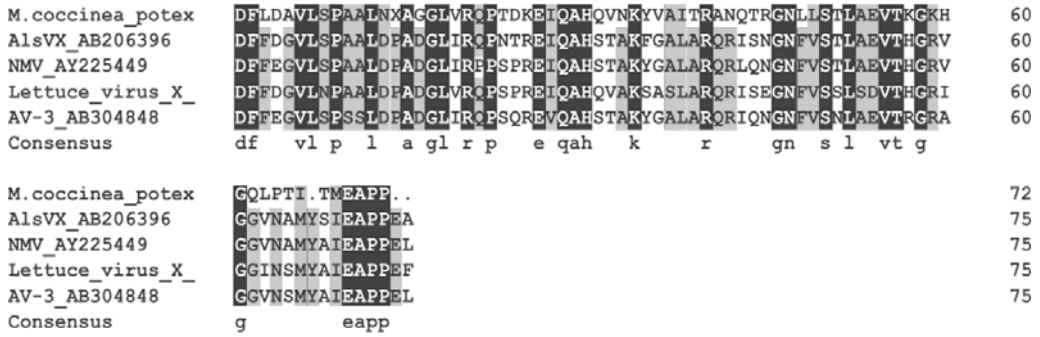

FIGURA 7. Alineamiento múltiple de las secuencias parciales de aminoácidos del *CP* del potexvirus aislado de *M. coccinea* (M. Coccinea Potex en esta figura), con la correspondiente región del AlsVX [AB206396], NMV [AY225449], *Lettuce virus X* [AM745758] y AV-3 [AB304848]. Nivel de homología de 100% indicado por cajas negras y de >75% indicado por cajas grises.

AGRONOMIA 26-2 -PROFE194).indd 289 06/10/2008 19:41:04

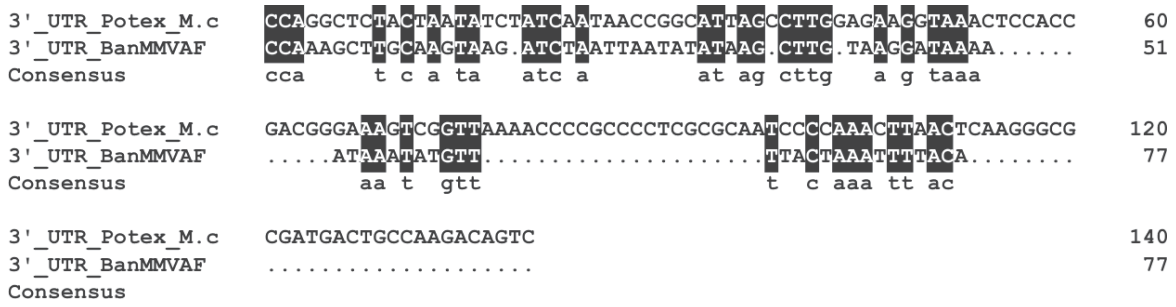

FIGURA 8. Alineamiento múltiple de la 3'UTR del potexvirus aislado de *M. coccinea* y la 3'UTR del BanMMV [AF314662] (AF en esta figura). Las cajas negras representan aminoácidos con 100% de homología.

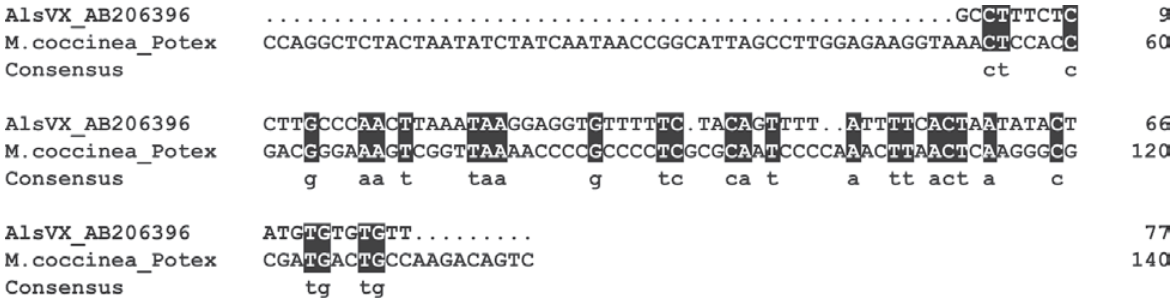

FIGURA 9. Alineamiento múltiple de la 3' UTR del potexvirus aislado de *M. coccinea* y la 3' UTR del AlsVX. Las cajas negras representan aminoácidos con 100% de homología.

Agradecimientos

Este estudio fue financiado por la Unidad de Virología Vegetal del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), de Palmira (Colombia), y por el Fondo Nacional de Fomento Hortofrutícola-Asohofrucol (Colombia).

Literatura citada

Adams, M.J., J.F. Antoniw, M. Bar-Joseph, A.A. Brunt, T. Candresse, G.D. Foster, G.P. Martelli, R.G. Milne y C.M. Fauquet. 2004. The new virus family *Flexiviridae* and assessment of molecular criteria for species demarcation. Arch. Virol. 149, 1045-1060.

Belalcázar, S., M.I. Arcila, J.A. Valencia, H. Reichel y J. Narváez. 1996. Efecto del virus del mosaico del pepino (CMV) sobre los parámetros de crecimiento, desarrollo y producción del clon de banano Gros Michel. Revista Agrocambio 2(3) 34-39.

Belalcázar, S., H. Reichel, R. Pérez, T. Gutiérrez, G. Múnera y E. Arévalo. 1998. Banana streak badnavirus infection in *Musa* plantations in Colombia. pp. 55-57. En: Frison, E. y S.L. Sharrock (eds). Banana streak virus: a unique virus-*Musa* interaction? Proceedings of a Workshop of the Pro*Musa* Virology Working Group, Montpellier (Francia), 19-21 de enero de 1998. Inibap, Montpellier.

Castaño, M., G.E. Gálvez, J.A. Arroyave, A.C. Velasco y F. Morales. 1994a. Aislamiento de una cepa colombiana del virus del mosaico del banano. Revista de la Sociedad Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines (Ascolfi) 18, 130-134.

Castaño, M., G.E. Gálvez, J.A. Arroyave, A.C. Velasco y F. Morales. 1994b. Aislamiento de una cepa colombiana del virus del mosaico del banano. Revista de la Sociedad Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines (Ascolfi) 19, 94.

Dolja, V.V., V.P. Boyko, A.A. Agronovsky y E.V. Koonin. 1991. Phylogeny of capsid proteins of rod-shaped and filamentous RNA plant viruses: two families with distinct patterns of sequence and probably structure conservation. Virology 184, 79-86.

Escobar, J. y L.G. Martínez. 1997. Descripción de los principales virus en el plátano y banano. pp. 24-26. En: Robayo, V.G. (ed.). Bananos y plátano. Con el mayor entorno ambiental, Cominpu S.A., Bogotá.

Fauquet, C.M., M.A. Mayo, U. Maniloff, U. Desselberger y L.A. Ball (eds). 2005. Virus taxonomy: Eighth report of the International committee on the taxonomy of viruses. Academic Press, Nueva York.

Gambley, C.F. y J.E. Thomas. 2001. Molecular characterization of banana mild mosaic virus, a new filamentous virus in *Musa* spp. Brief report. Arch. Virol. 146, 1369-1379.

Gentit, P., X. Foissac, L. Svanella-Dumas, M. Peypelut, G. Macquaire y T. Candresse. 2002. Molecular characterization of foveaviruses associated with cherry necrotic mottle leaf disease and complete sequencing of a European isolate of

AGRONOMIA 26-2 -PROFE194).indd 290 06/10/2008 19:41:06

Cherry green ring mottle virus. Arch. Virol. 147, 1033-1042.

Gibbs, A. y A. Mackenzie. 1997. A primer pair for amplifying part of the genome of all potyvirids by RT-PCR. J. Virol. Methods 63, 9-16.

Henderson, J., M.J. Gibbs, M.L. Edwards, V.A. Clarke, K.A. Gardner y J.I. Cooper. 1992. Partial nucleotide sequence of poplar mosaic virus RNA confirms its classification as a carlavirus. J. Gen. Virol. 73, 1887-1890.

Jones, D.R. 2000. Introduction to banana, abacá and ensete. En: Jones, D.R. (ed.). Diseases of banana, abacá and ensete. CABI, Londres, Wallingford (Reino Unido).

Lins, S.R.O. y R.S.B. Coelho. 2004. Occurrence of diseases in ornamental tropical flowers in the state of Pernambuco. Fitopatología Brasileira 29(3), 332-335.

Liu, A.Z., D.Z. Li y X.W. Li. 2002. Taxonomic notes on wild bananas (*Musa*) from China. Bot. Bull. Acad. Sin. 43, 77-81.

Mariño, L. 1997. Clonación del gen de la cápside proteica de una cepa colombiana del virus del mosaico del pepino (CMV) para su expresión en plantas por transformación mediante *Agrobacterium*. Revista Corpoica 2(1), 58-59.

Martelli, G.P., M.J. Adams, J.F. Kreuze y V.V. Dolja. 2007. Family *Flexiviridae*: a case study in virion and genome plasticity. Annu. Rev. Phytopathol. 45, 73-100.

Martínez, G. 2002a. Virus emergentes en plátano y banano: un nuevo limitante para la producción en la zona cafetera colombiana. pp. 260-265. En: Memorias XV Reunión Internacional Acorbat, Cartagena, octubre 27-noviembre 2. Acorbat International, Augura, Cartagena (Colombia).

Martínez, G., L.S. Angel y D.M. Manzur. 2002b. Observaciones preliminares sobre los síntomas asociados con un posible nuevo virus en plátano en el departamento de Caldas. p. 34. En: XXIII Congreso Ascolfi, julio 3-6, Corpoica, Universidad Nacional de Colombia, Syngenta.

Martínez, G. 2005. Viruses of plantain in the coffee zone: their influence on the economic viability of the crop. pp. 214. En: Proceedings of the Second International seminar on production, commercialization and industrialization of plantain. Corpoica, Universidad de Caldas, Gobernación de Caldas y Secretaría de Agricultura de Caldas, Manizales (Colombia).

Reichel, H., J. Narváez, S. Belalcázar, J. Kummert y P. Lepoivre. 1995a. Ingeniería genética para la resistencia al virus del mosaico del pepino (CMV) en especies comerciales de *Musa spp*. en Colombia. I. Aislamiento y caracterización molecular del gen de la cápside protéica (*CP*) de dos aislamientos colombianos de CMV. pp. 140. En: Memorias IV Congreso Nacional Sociedad Colombiana de Fitomejoramiento y Producción de Cultivos, Chinchiná, Caldas, mayo 8-10. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé) y Universidad de Caldas.

Reichel, H., J. Kummert, P. Lepoivre, S. Belalcázar y J. Narváez. 1995b. Ingeniería genética para la resistencia al virus del mosaico del pepino (CMV) en especies comerciales de *Musa* spp. en Colombia. Revista Agrocambio 1(2), 9-17.

Reichel, H., L. Marino, J. Kummert, S. Belalcázar y J. Narváez. 1996a. Caracterización molecular del gen de la proteína de la cápside de dos aislamientos del virus del mosaico del pepino (CMV), obtenidos de plátano y banano (*Musa* spp.). Revista Corpoica 1, 1-5.

Reichel, H., S. Belalcázar, G. Múnera, E. Arévalo, E. y J. Narváez. 1996b. First report of Banana streak virus infecting plantains (*Musa* spp.) in Colombia. Plant Dis. 80, 463.

Reichel, H., S. Belalcázar, G. Múnera, E. Arévalo y J. Narváez. 1996c. Enfermedad del rayado del banano. Plegable divulgativo. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), Editorial Piloto Ltda., Medellín.

Reichel, H. 2002. Partial characterization of Banana mild mosaic virus (BanMMV) isolates infecting *Musa* spp. from Colombia, the Philippines and Africa. Mémoire de diplôme des Etudes Approfondi (DEA). Faculté des Sciences Agronomiques, Bélgica (Inédito).

Reichel, H., A. K. Martinez, J.A. Arroyave, R. Sedano, F.J. Morales, O. Duterme, J. Kummert y P. Lepoivre. 2003. First report of Banana mild mosaic virus (BanMMV) isolated from plantains (*Musa* AAB) in Colombia. Plant Dis. 87, 1150.

Reichel, H., A.K. Martinez, J.A. Arroyave, F.J. Morales, P. Lepoivre, J-P. Busogoro, J. Kummert y M.H. Jijakli. 2004. Preliminary characterization of Banana mild mosaic virus isolates from Colombia, the Philippines and Africa. p. 184. En: Abstract guide. 1st International Congress on *Musa*. Harnessing research to improve livelihoods. Penang (Malaysia), julio 6-9.

Rustici, G., G.P. Accotto, E. Noris, V. Masenga, E. Luisoni y R.G. Milne. 2000. Indian citrus ringspot virus: a proposed new species with some affinities to potex-, carla-, fovea- and allexiviruses. Arch. Virol. 145, 1895-1908.

Saiki, R.K., D.H. Gelfand, S. Stoffel, S.J. Scharf, R. Higuchi, G.T. Horn, K.B. Mullis y H.A. Erlich. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science 239, 487-491.

Sambrook, J., E.F. Fritsch, y T. Maniatis. 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY.

Sharman, M., J.E. Thomas y R.G. Dietzgen. 2000. Development of a multiplex immunocapture PCR with colourimetric detection for viruses of banana. J. Virol. Methods 89, 75-88.

Villegas, N.P., J.J. Alarcón y J.R. Galindo. 2005. Enfermedades limitantes en la producción de *Heliconias* en los departamentos de Caldas, Risaralda y Quindío. ICA Informa 32(2), 12-22. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Bogotá.

AGRONOMIA 26-2 -PROFE194).indd 291 06/10/2008 19:41:06