

**PROSPECCIÓN DE VIRUS EN *Fragaria chiloensis* (L.) Duch.. Y
PRODUCCIÓN DE PLANTAS LIBRES DE PATÓGENOS POR
CULTIVO IN VITRO**

PAMELA FERNANDA ROJAS BAÑADOS
DOCTOR EN CIENCIAS MENCIÓN INGENIERÍA GENÉTICA VEGETAL

RESUMEN

Fragaria chiloensis ssp *chiloensis* (L.) Duch, es una planta nativa de Chile. Se han descrito dos formas botánicas para esta especie; la forma *chiloensis*, de fruto blanco-rosado que se cultiva en zonas cordilleranas y costeras, y la forma patagónica, que crece silvestre y produce frutos rojos y pequeños. *F. chiloensis*, que corresponde a uno de los progenitores de la frutilla comercial (*F. x ananassa*), produce frutos con características únicas que la convierten en un recurso genético con potencial para convertirse en una nueva alternativa para el mercado frutícola. Sin embargo, diversos problemas afectan la productividad de los huertos de *F. chiloensis*, incluyendo las prácticas de cultivo artesanal y el ataque por patógenos. Dentro de las enfermedades que afectan a los cultivos de frutilla comercial, las de origen viral pueden causar grandes pérdidas económicas. A nivel mundial se han identificado más de 30 virus que afectan a las especies del género *Fragaria*, pero existe poca información relacionada con *F. chiloensis*. Considerando que la propagación de plantas en los huertos se efectúa a través de estolones y que el manejo de vectores virales es poco habitual en el cultivo de frutilla blanca, se realizó un estudio para determinar el estado virológico actual de los huertos y de poblaciones silvestres de *F. chiloensis* y así, la ocurrencia y distribución de los principales virus que afectan a esta especie. Los virus transmitidos por áfidos: Strawberry crinkle virus (SCV), Strawberry mild yellow edge virus (SMYEV), Strawberry mottle virus (SMoV) y Strawberry vein banding virus (SVBV) fueron encontrados en plantas silvestres y cultivadas, pero el porcentaje de plantas infectadas por SMYEV fue menor en las poblaciones silvestres (forma patagónica). Por otra parte, a nivel de campo en plantas silvestres y cultivadas, no se observaron síntomas atribuibles a la infección viral. Además, se evaluó la susceptibilidad de *F. chiloensis* a la infección por SMYEV, mediante ensayos de inoculación viral por injerto, y se identificaron los genotipos BAUxPUR (forma *chiloensis*), Petrohue y Osorno (forma patagónica) como genotipos de baja susceptibilidad a la infección por SMYEV. Los resultados sugieren que la forma

botánica patagónica presenta menor susceptibilidad a la infección por SMYEV y que *F. chiloensis* es tolerante a la infección por SMYEV. Sin embargo, en condiciones de cultivo *in vitro*, las plantas infectadas por SMYEV presentaron disminución del crecimiento y desarrollo foliar. Este trabajo informa por primera vez las secuencias nucleotídicas parciales de aislados virales chilenos de SCV y SVBV y propone un sistema optimizado de saneamiento por cultivo *in vitro* de meristemas para obtener plantas de *F. chiloensis* libres de virus y en óptimas condiciones sanitarias que puede ser de utilidad para asistir programas de mejoramiento genético y de conservación del germoplasma nativo. La información generada en esta tesis podrá ser empleada para el desarrollo de estrategias que permitan el control de las infecciones virales, la conservación y el cultivo sustentable de la frutilla blanca chilena.

SUMMARY

Fragaria chiloensis ssp *chiloensis* (L.) Duch, is a wild strawberry distributed naturally in Chile. Two botanical forms have been described; the white-fruited *chiloensis*, which is cultivated in the coastal mountains, and the small-red fruited *patagonica*, which grows in the wild. *F. chiloensis*, the mother of the current commercial strawberry (*F. x ananassa*), produces fruits with unique quality characters and has the potential to become a new alternative fruit in the market. However, several problems affect fruit yields including poor husbandry practices and plant diseases. About the strawberry diseases, viruses are one of the most important pathogens. In the world, more than 30 viruses affecting *Fragaria* species have been described but scarce information is available for *F. chiloensis*. With this latter problem in mind and considering that accumulation of viruses in propagated plants can produce important yield losses, we performed a survey of the viruses affecting wild and cultivated populations of *F. chiloensis* using classical methods and molecular tools. In addition, we implemented a methodology of virus-free plant production by meristem culture and micropropagation. Finally, we performed a study of virus infection in *F. chiloensis* and less susceptible genotypes were identified. Our results show that all populations of *F. chiloensis* studied were affected by aphid borne viruses (SCV, SMYEV, SMoV and SVBV) but the wild populations of plants had less SMYEV incidence than the cultivated plants. We report the first time the partial nucleotide sequences of Chilean isolates of SCV and SVBV. On the other hand, controlled infection experiments showed that *F. chiloensis* is tolerant to aphid borne virus infection. Nevertheless, SMYEV infected plants cultivated in vitro had low growth and leaf development. This evidence suggests that virus infections could affect yields of the *F. chiloensis* orchards. Furthermore, wild populations of *F. chiloensis* f. *patagonica* were less susceptible to SMYEV infection. We hypothesize that different defense mechanism affect the virus infection among botanic forms of *F. chiloensis*. Three less susceptible genotype were identified (BAU x PUR, Petrohue and Osorno) which can be used in strawberry breeding programs. *F. chiloensis* responds to low concentrations of growth regulators and the proposed methodology for healthy plant production using in vitro culture is effective and low cost. It can be useful to assist breeding programs and conservation strategies. This information can be used to develop

strategies to control virus diseases, conservation and the improvement of the Chilean white strawberry culture