

## Presencia del virus del bronceado del tomate (TSWV) en el cultivo del tabaco

R. SANTIAGO, J. J. MORENO, J. A. RODRÍGUEZ y E. VERDEJO

En agosto de 1995 se detectaron plantas de tabaco con síntomas del virus del bronceado del tomate (Tomato Spotted Wilt Virus, TSWV) en la zona tabaquera de las Vegas del Alagón (Cáceres). El test inmunoenzimático ELISA, sandwich DAS, confirmó la presencia del virus. En este trabajo se dan a conocer los síntomas que provoca y se cuestiona la estrategia de lucha.

R. SANTIAGO, J. A. RODRÍGUEZ, J. J. MORENO y E. VERDEJO: Servicio de Sanidad Vegetal (SSV). Junta de Extremadura. Plaza de la Soledad, 5-1<sup>a</sup>. 06001 Badajoz.

**Palabras claves:** Virus del bronceado del tomate, TSWV, Tomato Spotted Wilt Virus, tabaco, Extremadura, España.

### INTRODUCCIÓN

El virus del bronceado del tomate TSWV (Tomato Spotted Wilt Virus) es un tospovirus de la familia Bunyviridae, una familia de virosis animales que incluye otros virus como Impatiens Necrotic Spot Virus (INSV). Los tospovirus tienen partículas casi esféricas de 85 nm de diámetro con una envuelta lipoprotéica. El virus es capaz de infectar a numerosos huéspedes silvestres y cultivados; se citan unas 360 especies diferentes (ADAM y KEGLER, 1994). TSWV es transmitido por insectos de la familia Thripidae en particular por *Frankliniella occidentalis* (ADAM y KEGLER, 1994).

Descrita la enfermedad por primera vez en 1919 al observarse sobre tomates en 1915 en Australia (ROSELLO *et al.*, 1994), se ha identificado posteriormente en muchos países, encontrándose ahora ampliamente extendida por todo el mundo. En Europa el virus fue descrito por primera vez en 1932, en Inglaterra y más tarde en otros países (Países Bajos, Alemania, Francia, etc.) (BERLING *et al.*, 1992).

En España el virus del bronceado del tomate se diagnosticó de forma oficial por primera vez en la campaña 1988-89 en dos zonas importantes de cultivos hortícolas, Almería en cultivos de pimiento y tomate bajo invernadero (CUADRADO y OSCA *et al.*, 1991) y en tomate al aire libre en Valencia (JORDA y OSCA *et al.*, 1991).

En Australia en 1931, y nuevamente en 1933, el 35% de las plantas de tabaco de un semillero experimental fueron destruidas por TSWV (PITTMAN, 1934). Actualmente causa importantes pérdidas en la producción tabaquera de varios países. Está extendido y es especialmente dañino en Centro Europa y Grecia, también en zonas del sudeste de Brasil y en áreas tabaqueras de Estados Unidos (GOODING, 1991).

El TSWV puede atacar al tabaco desde el estado de plántula hasta la madurez pudiendo inducir diferentes síntomas, dependiendo de la edad y el sitio de la planta donde se producen (REICH, 1986), de las condiciones ambientales (especialmente la temperatura), nivel de infección y número de razas del

virus que infectan el huésped; los síntomas pueden aparecer en plantas con 2-4 días, marchitarse y morir en una semana por infección sistémica (GOODING, 1991).

El virus causa anillos cloróticos-necróticos en hojas (ROSELLO *et al.*, 1994), como tiros a una diana (MOORE *et al.*, 1997), que a menudo se unen para formar grandes áreas de tejido muerto (REICH, 1986). Al principio las manchas de las hojas son amarillas, más tarde los tejidos mueren y adquieren coloraciones marrones-rojizas. Las plantas afectadas quedan enanas y el brote apical se languidece o encorva (GOODING, 1991) distorsionándose y deformándose (REICH, 1986). Con frecuencia los tejidos muertos delimitan zonas alrededor de las venas principales de la hoja que permanecen verdes durante más tiempo que las áreas internerviales. Generalmente los primeros síntomas aparecen en la yema terminal o en las hojas jóvenes que llegan a distorsionarse. En plantas de tabaco más desarrolladas los síntomas pueden ser sistémicos afectando al principio a un lado de la planta, o localizados afectando a una o dos hojas. Las plantas infectadas sistémicamente frecuentemente se distorsionan especialmente en el brote terminal (MELTON *et al.*, 1996).

Los síntomas en los tallos son también variables, al principio del cultivo la parte más baja del tallo puede mostrar un oscurecimiento, como hundido, pareciendo áreas dañadas. Cerca de la época del despunte pueden verse bandas necróticas oscuras paralelas en los tallos por debajo de las hojas infectadas (curvadas o rectas), distintas de las que producen los productos para el desbrote (MOORE *et al.*, 1997). En las plantas más viejas se observan manchas oscuras alargadas y concéntricas en los tallos principales, por encima y por debajo de hojas con síntomas. En algunas plantas donde las inflorescencias no se suprimen, se observan pequeñas manchas necróticas en cáliz y corolas (CULBREATH *et al.*, 1991).

La muerte de una parte de la planta, o de toda ella, puede producirse unos días des-

pués de que aparezcan los síntomas, especialmente al comienzo de la temporada (REICH, 1986). Las plantas infectadas permanecen sin crecer durante algunas semanas, después las hojas caen y mueren, y la planta enseguida sucumbe. Ocasionalmente, en lugar de morir las plantas desarrollan un crecimiento secundario con nuevas hojas casi normales, pero más tarde pueden desarrollar síntomas necróticos (SAMUEL y BALD, 1933).

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Material vegetal

Desde 1992, año en que se diagnosticó por primera vez el virus en Extremadura sobre muestras de tomate y lechuga enviadas por el SSV (Servicio de Sanidad Vegetal) a la ETSIA de Valencia (Escuela Superior de Ingenieros Agrónomos) (JORDA, comunicación personal), se iniciaron inspecciones periódicas en las comarcas tabaqueras de la provincia de Cáceres, las Vegas del Tiétar y del Alagón, en alerta por la importante cantidad de plántulas de tabaco que se adquieren en la zona del Levante Español, ampliamente contaminado con TSWV.

Inicialmente la prospección se dirigió a constatar la presencia del trips transmisor del virus, *Frankliniella occidentalis* (Pergande). Para ello se tomaron muestras de plantas de semilleros de tabaco, tipo Virginia y tipo Burley, invernaderos de hortalizas y ornamentales de la zona, y malas hierbas próximas a ambos. Con posterioridad se visitaron las parcelas de tabaco buscando anomalías o síntomas que hicieran sospechar que se trataba de lesiones causadas por el TSWV.

Durante las campañas de 1993 y 1994 se analizaron, por el test ELISA, plantas de semilleros de tabaco para conocer el estado sanitario de los mismos con respecto al virus del bronceado del tomate.

Desde que se detectó el virus en tabaco (septiembre 1995), y posterior confirmación

con análisis serológicos, se realizaron los siguientes muestreos y análisis:

- Nueva toma de muestras y análisis de plantas de tabaco con síntomas de la parcela originaria para confirmación de los resultados iniciales.

- Se muestreó el 0,5% de las plantas del campo, a base de tomar al azar un surco de cada 8 y una muestra cada 25 plantas para analizar y valorar la incidencia del virus.

- Se analizaron plantas sintomáticas de parcelas próximas o colindantes con el foco inicial, para valorar la extensión del problema. Se tomaron muestras en los términos municipales de Riobobos, Montehermoso, Galisteo, y Guijo de Galisteo.

- Para completar las valoraciones, y debido a que el virus no fue detectado hasta final de campaña, se analizaron troncos desprovistos de hojas, en tabaco tipo Virginia ya cosechado.

- Se hicieron análisis serológicos en invierno de malas hierbas y plantas cultivadas, próximas al campo contaminado por el virus.

- Se recolectó en invierno el vector transmisor *Frankliniella occidentalis*.

## Método

Para la extracción del vector se utilizó el embudo de Berlesse, así como la técnica de golpear las plantas sobre una superficie blanca y posterior recogida de los trips con pincel. La determinación se realizó siguiendo las claves de Lacasa (LACASA, 1990).

Para la detección del virus TSWV se empleó la técnica inmunoenzimática ELISA-sandwich-DAS utilizando anticuerpos policlonales BR-01 de Loewe.

En el caso de plantas que presentaban anomalías sospechosas, se seleccionaron para el proceso trozos de hojas con síntomas. En semilleros, por tratarse en general de plantas asintomáticas, se agruparon 10 plantas en una misma muestra y se procesaron porciones de la zona del cuello.

## RESULTADOS Y CONCLUSIONES

En la prospección realizada en 1992 para determinar la presencia del vector, se identificó *F. occidentalis* (fig. 1) en la mayoría de las muestras tomadas en el interior de los invernaderos o junto a éstos, siendo mucho menos frecuentes en las tomadas lejos de ellos, donde apareció *Trips tabaci* (Lind) en prácticamente todas las muestras.

Los resultados de las inspecciones y análisis realizados para determinar el TSWV en semillero y campos de producción anteriores a septiembre de 1995 fueron negativas, correspondiéndose con plantas asintomáticas en semilleros y plantas con síntomas no típicos del virus, presumiblemente causados por otros agentes bióticos o abióticos.

En septiembre de 1995 se obtienen los primeros resultados positivos de la infección viral, encontrándose plantas con graves necrosis (fig. 2) y distorsiones en brotes apicales (fig. 3), con parada de crecimiento y con porte más pequeño que el resto (fig. 4). En hojas se aprecian anillos concéntricos necróticos (fig. 5) y manchas cloróticas y necróticas que a menudo se unen y provocan la muerte de las hojas (fig. 6). En otros casos amarilleo y posterior necrosis de los nervios de las hojas (fig. 7). Algunos síntomas encontrados eran sistémicos, afectando al principio a un lado de la planta (fig. 8), deformando o frunciendo las hojas (fig. 9), como resultado de un crecimiento desigual. Los tallos de las plantas más viejas presentan unas lesiones amplias, en algunos casos de hasta 30 centímetros, oscuras, deprimidas y concéntricas por encima y debajo de la inserción de hojas con síntomas (figs. 10 y 11).

Se obtuvieron resultados positivos por el test Elisa de los análisis realizados a plantas con la citada sintomatología en el párrafo anterior, procedente de dos tomas de muestra de tabaco Virginia variedad K326 realizadas en el paraje «El Rincón», de Alagón, pedanía de Galisteo (fig. 11).

La incidencia del virus en la parcela del foco inicial ha sido muy baja, pues no se de-



Fig. 1.—Trips vector del virus *Frankliniella occidentalis*.

tectó ninguna planta positiva del muestreo realizado al azar sobre el 0,5% de ellas.

Se obtuvieron resultados positivos en parcelas próximas (fig. 12):

– En el término de Alagón (Galisteo), tanto en tabaco Virginia como en Burley, en un radio aproximado de 2 Km. desde el foco inicial.

– En la margen izquierda del río Alagón en el término de Riobobos, en 2 parcelas de tabaco Burley, situadas junto al río en la zona más próxima al inicio del foco. No se encontró ninguna planta con el virus en el resto del municipio.

La incidencia en estas parcelas al igual que la del paraje «El Rincón» fue también muy baja.

Las muestras de las explotaciones de Montehermoso y Guijo de Galisteo fueron negativas.

Todos los resultados de los análisis a tallos de tabaco Virginia a final del cultivo fueron negativos, pensamos que debido a que las lesiones eran muy viejas y prácticamente no existía actividad vegetativa.

*Lactuca sativa* L. y las malas hierbas *Gnaphalium luteoalbum* L., *Mentha suaveolens* Ehrh. y *Sonchus* sp. recolectadas en diciembre de 1995 del campo contaminado y analizadas por ELISA con resultado positivo, parecen ser los reservorios de TSWV, a pesar de no presentar síntomas. Los análisis de *Nicotiana tabacum* L. y otras especies de flora espontánea como *Lactuca* sp., *Senecio vulgaris* L., *Solanum tuberosum* L., *Polygonum persicaria* L., *Solanum nigrum* L., *Daucus carota* L., *Capsella bursa-pastoris* (L) Medic., *Galium aparine* L., *Datura* sp., *Rumex* sp., *Urtica* sp., *Scandix* sp., *Vicia* sp., *Malva* sp. y *Stellaria* sp. han resultado negativos.



Fig. 2.-Planta con infección grave de TSWV.



Fig. 4.-Planta con severa necrosis en sus hojas y aparente reducción de su crecimiento.



Fig. 3.-Planta con distorsiones en brotes apicales.



Fig. 5.—Hojas con anillos concéntricos necróticos.



Fig. 6.—Hojas con nervios cloróticos empezando ya a necrosarse.



Fig. 7.—Hoja con amplias áreas necróticas por unión de lesiones y necrosis de venas.



Fig. 8.—Planta con infección sistémica afectando al desarrollo de una parte de la planta.

Durante todo el invierno de 1995-96 se encontraron individuos adultos del vector *F. occidentalis*.

La incidencia del TSWV en semilleros de tabaco fue nula, lo que sugiere que la infección en este caso no se inició en los plantales, sino después del trasplante por inóculo originario de campos próximos de tomate fuertemente afectados por TSWV. En este caso, las plántulas de tomate procedían de un semillero tradicional, enclavado en una zona donde el virus del bronceado del tomate está ampliamente extendido.

Aunque los daños en 1995 han pasado casi desapercibidos, se esperaba que en las siguientes campañas, al igual que ocurrió con el TSWV en tomate, se produjera un aumento del foco en extensión y gravedad, y más si tenemos en cuenta que tanto el vector como el virus se encuentran en la flora espontánea de ésta zona. Por el contrario, y al igual que en hortalizas la incidencia en 1996



Fig. 9.—Atrofia, distorsión y necrosis en hojas jóvenes.



Fig. 10.—Lesiones necróticas en tallo principal.



Fig. 11.—Detalle de manchas oscuras, alargadas y concéntricas en el tallo principal

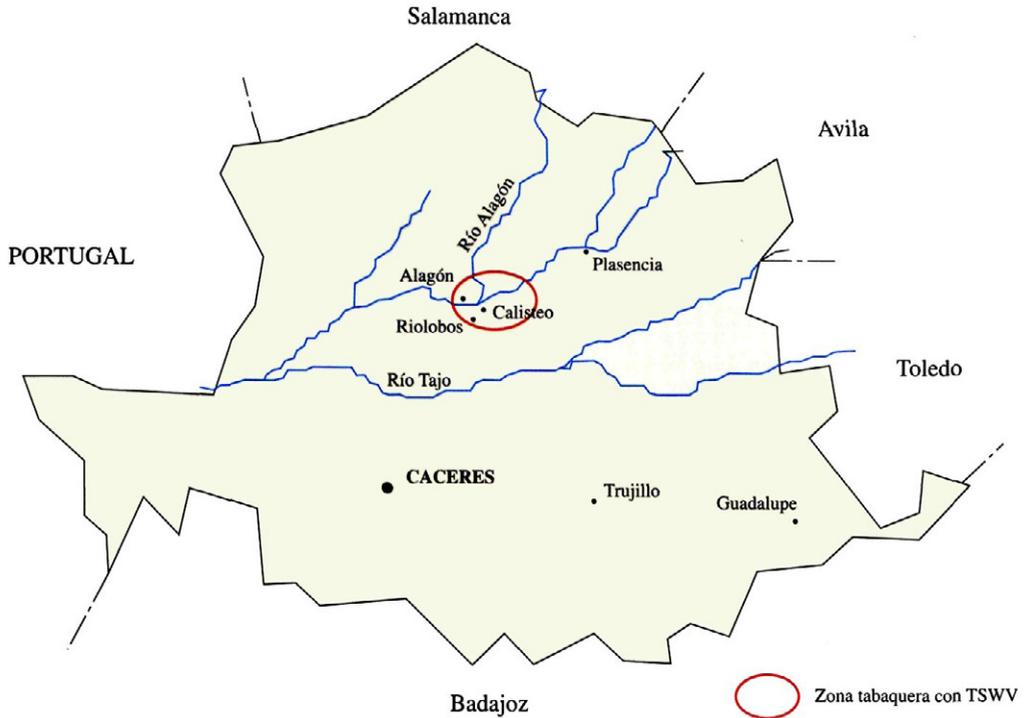


Fig. 12.—Zona tabaquera con TSWV.

ha sido casi nula, encontrándose sólo una planta de tabaco con síntomas de TSWV. Creemos que puede ser debido a las condiciones climáticas, con invierno y primavera muy lluviosas.

Es de resaltar que en la parcela donde se apreciaron los síntomas por primera vez, estaba bastante mal cuidada y con fuertes síntomas de otros virus, como lo pusieron de manifiesto análisis posteriores. Los virus detectados con más frecuencia fueron: PVY (virus Y de la patata), TMV (virus del mosaico del tabaco) y CMV (virus del mosaico del pepino), en la mayoría de los casos agrupados en la misma planta.

En vista a los resultados obtenidos, se puede concluir que las inspecciones y análisis deben ir dirigidos, al menos en un principio, a la búsqueda de plantas con síntomas,

ya que en ningún caso se han obtenido resultados positivos en los análisis por ELISA de plantas asintomáticas.

## ESTRATEGIA Y CONTROL DE LUCHA

En los Estados Unidos han llegado a la conclusión que eliminar las plantas infestadas, dar tratamientos contra los trips y la rotación de cultivos, tiene poco o ningún valor en la lucha contra el TSWV en el cultivo del tabaco (MELTON *et al.*, 1996).

El mejor método de control para el virus sería la obtención de material resistente al virus del bronceado, pero hasta la fecha las distintas variedades de tabaco tienen una mayor o menor susceptibilidad, pero ninguna es resistente al virus.

Por tanto, y hasta que se consiga introducir resistencias se debe luchar con los medios existentes:

- Control del intercambio del material vegetal, evitando el traslado de plántulas de zonas contaminadas a otras que no lo están.
- Control de la sanidad de las plantas en el semillero, antes del trasplante.
- Eliminación de malas hierbas y de plantas afectadas por el virus.
- Lucha directa para controlar al vector, solo en último extremo.

#### ABSTRACT

SANTIAGO, R., MORENO, J. J., RODRÍGUEZ, J. A. y VERDEJO, E., 1997: Presencia del virus del bronceado del tomate (TSWV) en el cultivo del tabaco. *Bol. San. Veg. Plagas*, **23**(2): 167-175

Spotted wilt, caused by TSWV, was first reported in tobacco in Extremadura, Spain, in August of 1995. The virus was identified by ELISA sandwich DAS. Concentric ring, large lesions with necrotic tissue, necrotic lines mainly along the sides of veins, apical necrosis, stunting and malformation of leaves, elongated concentric darkened spots and lesions on the main stalks were observed.

**Key words:** Tomato Spotted will Virus, TSWV, Tobacco, Extremadura, Spain.

#### REFERENCIAS

- ADAM, G. y KEGLER, H., 1994: Tomato spotted wilt virus and related tospoviruses. (Abstr.). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, **28**(6): 483-504.
- BERLING, A.; GEBRE-SELASSIE, K. y MARCHOUX, G., 1992: El Virus del Bronceado del tomate: Situación-Perspectivas. «Jornadas técnicas sobre Trips/Virus del Bronceado (TSWV). Murcia 26-27 Febrero». Ed. Consejería de Agricultura, Ganadería y Pesca de Murcia: 23-28.
- CULBREATH, A. K.; CSINOS, A. S.; BERTRAND, P. F. y DEMSKI, J. W., 1991: Tomato Spotted Wilt Virus Epidemic in Flue-Cured Tobacco in Georgia. *Plant Disease*, **75**: 483-485.
- CUADRADO, I. M.; DE JUAN, E.; MORENO, P. y SAEZ, E., 1991: Detección del virus del Bronceado del Tomate (TSWV) en cultivos de pimiento y tomate bajo invernadero en el poniente almeriense. «Estudios de Fitopatología. Ed. Consejería de Agricultura, Industria y Comercio de Badajoz»: 216-221.
- GOODING, G. V., 1991: *Diseases caused by viruses. Tomato Spotted Wilt Virus. Compendium of Tobacco Diseases*. Edited by H.S. Shew and G.W. Lucas. APS. Press The American Phytopathological Society.
- JORDA, C. y OSCA, J. M., 1991: Un nuevo virus en España: El TSWV. Estudios de Fitopatología. Sociedad Española de Fitopatología. Ed. Consejería de Agricultura, Industria y Comercio de Badajoz: 35-40.
- LACASA, A., 1990: Datos de taxonomía, biología y comportamiento de *Frankliniella occidentalis*. *Cuadernos Phytoma España*, **6**: 9-15.
- MELTON, T. A.; PORTER, D. y WOOD, K., 1996: Disease Management. Flue-Cured Tobacco. Information North Carolina. Cooperative Extension Service 111
- MOORE, J. M.; BERTRAND, P.; JONES, D.; GIVAN, W. D.; SUMNER, P.; TYSON, A. W.; DANGERFIELD, C. W.; HARRIS, G. W. y KIGHTLINGER, K. D., 1997. Georgia Tobacco Grower's Guide. Cooperative Extension Service. The university of Georgia, College of Agricultural and Environmental Sciences in cooperation with Georgia Tobacco Comisión: 78.
- PITTMAN, H. A., 1934: Virus diseases of plants with particular reference to the spotted or bronzy wilt disease of Tomatoes. (Abstr.) *Journ. Dept. Agric. Western Australia, Ser. 2*, xi, 1: 123-140.
- REICH, R. C., 1986: *Flue-Cured Tobacco*. Field Manual. R. J. Reynolds Tobacco Company. Winston-Salem, North Carolina (Second Edition): 26.
- ROSELLO, S., JORDA, C. y NUEZ, F., 1994. El virus del bronceado del tomate (TSWV). I. Enfermedades y epidemiología. *Phytoma España*, **62**: 21-34.
- SAMUEL, G. y BALD, F. G., 1933: Tomato spotted wilt on tobacco. (Abstr.). *Journ. Dept. Agric. Australia XXX-VII*, 190-195.

(Aceptado para su publicación: 4 octubre 1996)

#### AGRADECIMIENTOS

A Dña. Isabel Colino Nevado e Isabel Sacygo Hernández por su valiosa ayuda en la realización de los análisis de laboratorio. A Carlos García Barreto y Antonio Morcuende Bachiller por su colaboración en la toma de muestras. A D. Inocencio Blanco Martín y al resto del equipo técnico de CETARSA por la toma y envío de muestras de tabaco y trips así como por toda la documentación bibliográfica que nos suministró y a Dña. Inmaculada Montero Ruiz por la determinación de las especies vegetales.