

El Virus del Mosaico del Pepino Dulce en el cultivo del tomate (I)

Una nueva e importante amenaza para este cultivo hortícola en las zonas productoras españolas

El Virus del Mosaico del Pepino Dulce PepMV, es una especie viral, perteneciente al género Potexvirus, que comprende al menos otras 30 especies virales caracterizadas por presentar partículas flexuosas y filamentosas. El PepMV se transmite mecánicamente con una gran efectividad, se extiende en campo con gran facilidad y está causando actualmente grandes daños en los cultivos de tomate del Sureste español.

Soler, S.; Prohens, J.; Nuez, F.
Departamento de Biotecnología.
Universidad Politécnica de Valencia.



Mosaico amarillo en planta de tomate infectada por PepMV.



Sintomas de PepMV en plantas de tomate de la variedad Daniela.

La enfermedad causada por el virus del mosaico del pepino dulce (Pepino Mosaic Virus, PepMV) fue observada por primera vez en 1974 en el valle del Cañete (Perú) sobre plantas de pepino dulce (*Solanum muricatum*) cultivadas al aire libre (Jones et al., 1980). Las plantas afectadas mostraban un mosaico amarillo acusado en las hojas y frecuentemente enaciones en el envés. A partir de estas plantas se aislaron partículas flexuosas de unos 505 nm de longitud, lo que hizo pensar que se trataba de un *Potexvirus*. En ensayos serológicos realizados con antisueros de varios virus pudo observarse que los extractos de las plantas afectadas reaccionaban sólo con antisueros desarrollados para la detección del Narcissus Mosaic Potexvirus (NMV). En un principio se pensó que los síntomas observados estaban causados por este virus. Sin embargo, este nuevo agente viral y el NMV difieren considerablemente en su rango de hospedantes. Mientras el primero infecta multitud de especies de solanáceas, dentro de esta familia el NMV sólo infecta a

Nicotiana clevelandii (Brunt, 1966; Mowat, 1971). Ambos virus manifiestan también diferencias en cuanto a la distribución de las partículas virales en las células infectadas. Así, en el caso del NMV se forman grandes masas de viriones en el citoplasma e inclusiones en el núcleo, algo que no ocurre en las células infectadas por PepMV. Debido a estas diferencias el PepMV fue considerado por Jones et al. (1980) como una nueva especie viral perteneciente al género *Potexvirus*.

Situación actual del problema

Desde su detección en Perú, en 1974, no volvió a ser encontrado en ningún otro sitio. Es en Enero de 1999 cuando se cita su presencia en unos 50 invernaderos dedicados al cultivo del tomate en Holanda. El *Potexvirus* purificado a partir de muestras de plantas de estos invernaderos mostró una identidad de secuencia con el aislado original de PepMV (Jones et al., 1980) del 93% para la región del genoma que codifica para la polimerasa viral (Van der Vlugt et al., 2000). Los síntomas causados en

especies hospedantes coinciden en su mayoría con los producidos por el PepMV. Por todos estos motivos Van der Vlugt et al. (2000) lo clasificaron como PepMV. Las plantas infectadas presentaban manchas amarillas, clorosis internervial y malformaciones en las hojas (EPPO, 2000; Van der Vlugt et al., 2000). En fruto se pudieron detectar decoloraciones que causaban una pérdida en la calidad. Según la EPPO (2000), en general, las pérdidas comerciales fueron menores del 0,5%. Sólo en el 5 % de los invernaderos afectados se observaron pérdidas que alcanzaron el 5 %. Sin embargo, cabe resaltar que algunos agricultores que detectaban porcentajes elevados de plantas infectadas reemplazaron el cultivo con pepino (*Cucumis sativus*).

En este mismo año también se pudo detectar en dos invernaderos del sur del Reino Unido y en 1 de Alemania. En el Reino Unido los síntomas fueron más severos que los observados en Holanda y las plantas presentaban marchitamientos y deformaciones de hojas graves. El virus se extendía rápidamente en campo y se estimó que podría llegar a causar pérdidas económicas considerables si no eran detectadas y eliminadas rápidamente las plantas afectadas (EPPO, 2000).

Aunque en Francia Monnet et al. (2000) indican que todavía no ha sido detectado el PepMV, en el reciente boletín de la Oficina Europea para la Protección Vegetal se ha citado la presencia del PepMV en campos de cultivo de tomate en la región francesa de Bretaña (EPPO, 2000). De esta manera, hasta el momento, se ha citado la presencia y daños causados en tomate por el PepMV en Holanda, Inglaterra, Alemania, España y Francia.

En la actualidad el PepMV está causando daños importantes en los cultivos bajo invernadero de Murcia, Almería y Canarias (Jordá et al., 2000).

Propiedades del PepMV

El PepMV se transmite mecánicamente con una alta eficiencia. Hay que destacar que la efectividad en la transmisión mecánica del virus es menor cuando la planta fuente utilizada era de pepino dulce que cuando era de *Nicotiana glutinosa* (Jones et al., 1980). En campo la enfermedad se extiende con gran facilidad, más rápidamente que el virus X de la patata (PVX) e incluso puede transmitirse más eficazmente que el virus del mosaico del tomate (ToMV) (Wright et al., 1999). Se transmite al tocar las plantas con las manos contami-

TABLA 1: RANGO DE HOSPEDANTES DEL PepMV

Familia	Especie	Síntomas
Aizoaceae	<i>Tetragonia expansa</i>	INS
Cucurbitaceae	<i>Cucumis sativus</i>	INS
Solanaceae	<i>Capsicum annuum</i>	.
	<i>C. pubescens</i>	-
	<i>Datura metel</i>	+
	<i>D. stramonium</i>	+
	<i>Lycopersicon chesmanii</i>	+
	<i>L. chilense</i>	+/-
	<i>L. esculentum</i>	+
	<i>L. esculentum var. cerasiforme</i>	+
	<i>L. parviflorum</i>	+
	<i>L. pennellii</i>	+
	<i>L. peruvianum</i>	+/-
	<i>L. pimpinellifolium</i>	+
	<i>Nicandra physaloides</i>	+
	<i>Nicotiana bigelovii</i>	+
	<i>N. clevelandii</i>	+
	<i>N. debneyi</i>	+
	<i>N. glutinosa</i>	+
	<i>N. occidentalis</i>	+
	<i>N. rustica</i>	+
	<i>N. tabacum</i>	+
	<i>Physalis floridana</i>	-
	<i>P. peruviana</i>	-
	<i>Solanum brachycarpum</i>	-
	<i>S. brevidens</i>	-
	<i>S. cardiophyllum</i>	+
	<i>S. chancayense</i>	-
	<i>S. curtilobum</i>	-
<i>S. demissum</i>	-	
<i>S. demissum X S. tuberosum</i>	-	
<i>S. megistacrolobum</i>	-	
<i>S. microdontum</i>	+	
<i>S. mochicense</i>	+	
<i>S. muricatum</i>	+	
<i>S. raphanifolium</i>	-	
<i>S. stenotomum</i>	+	
<i>S. stoloniferum</i>	+	
<i>S. tuberosum subsp. tuberosum</i>	+/-	

INS: Infección no sistémica.
 +: Infección sistémica con expresión de síntomas.
 -: Infección sistémica sin expresión de síntomas.
 +/-: Infección sistémica con expresión de síntomas dependiente del cultivar.

Fuente: Modificado de Jones et al., 1980; Brunt et al., 1996.

nadas, durante el empleo de utensilios infestados y hasta con la misma ropa. No se sabe si se transmite por semilla. En cualquier caso estas pruebas ponen en evidencia la capacidad de transmitirse el virus en la naturaleza mediante rozamiento entre plantas. No se ha descrito su transmisión por insectos. Así lo indican los trabajos de Jones et al. (1980) en los que pudo demostrarse su transmisión mecánica y se probó la incapacidad de las hembras ápteras del pulgón *Myzus persicae* en su transmisión a partir de plantas de *Nicotiana glutinosa* infectadas con el virus.

Por lo que respecta a la inoculación artificial, esencial para el estudio de esta enfermedad, Jones et al. (1980) utilizaron la inocu-

lación mecánica con polvo de carborundum como abrasivo para establecer el rango de hospedantes del PepMV. Sin embargo, en estas inoculaciones se utilizó extracto puro de plantas infectadas. Sería interesante conocer las condiciones de inoculación más adecuadas para el estudio de este virus. Asimismo, sería necesaria la realización de más pruebas para la determinación de otros posibles insectos vectores que pudieran estar implicados en la epidemiología de la enfermedad. Por lo que respecta a la transmisión por semilla, el termotratamiento de esta debe de ser eficaz ya que la temperatura de inactivación del virus es de 60°C. Por otra parte, el hecho de que la mayoría de las plantaciones se realicen con semilla comercial generalmente termotratada (24 horas a 80°C) no hace temer problemas epidemiológicos importantes de determinarse su transmisión por semilla.

Hasta la actualidad no se ha encontrado ningún otro hospedante natural del PepMV salvo el pepino dulce y habiéndose citado sobre esta especie sólo en el artículo original de Jones et al. (1980). Sin embargo, dentro del rango de hospedantes determinado en inoculaciones en laboratorio, se incluyen bastantes especies de solanáceas. Entre éstas se encuentran el tomate, *Lycopersicon esculentum*, así como las silvestres relacionadas *L. esculentum var. cerasiforme*, *L. chesmanii*, *L. parviflorum*, *L. pennellii* y *L. pimpinellifolium*. *L. chilense* y *L. peruvianum* han mostrado expresión de síntomas dependiendo del origen del material vegetal (Solter y Nuez, 2000)

Actualmente se conocen 37 especies hospedantes del PepMV pertenecientes a la familia *Solanaceae*, así como *Cucumis sativus* dentro de la familia *Cucurbitaceae* y *Tetragonia expansa* de la familia *Tetragoniaceae* (Tabla 1). Dentro de la familia *Solanaceae* afecta a géneros tan diversos como *Capsicum*, *Datura*, *Lycopersicon*, *Nicandra*, *Nicotiana*, *Physalis* y *Solanum*.

Sintomatología de la enfermedad

Segun Jones et al. (1980) la manifestación de los síntomas de la enfermedad depende de la especie considerada e incluso de la variedad dentro de la misma especie. Así, hay variedades de patata que muestran síntomas muy graves y otras que presentan infección sistémica asintomática. Mientras en *Datura* spp. se observan mosaicos severos y manchas necróticas que pueden afectar a la totalidad de la planta, en *Lycopersicon* spp. se produce una infección sistémica asintomática

o con síntomas débiles, como también ocurre en especies del género *Capsicum*, *Physalis* y varias de *Solanum*. En otros casos como en *Cucumis sativus* y *Tetragonia expansa*, de familias botánicas diferentes, el virus solo consigue infectar las hojas inoculadas sin producir síntoma alguno asociado a la enfermedad.

El síntoma más común en las plantas de tomate afectadas en Holanda e Inglaterra es la aparición de mosaicos amarillentos en las hojas. En las plantas afectadas en las regiones de Murcia-Almería pueden apreciarse también líneas amarillas sinuosas en el borde de los folíolos de las hojas. Otras veces el desarrollo del mosaico es tan intenso que se produce una deformación acusada de las hojas e incluso puede producirse el marchitamiento, más o menos grave, de las plantas tal como ha podido observarse en los campos infectados en Holanda e Inglaterra (EPPO, 2000). También, puede aparecer una distorsión de hojas, apuntamiento de folíolos, abullonado del limbo foliar y estrias de color verde oscuro en tallo y sépalos (Jordá et al., 2000).

En fruto se produce la manifestación aparente de decoloraciones que lo deprecian comercialmente. Estas decoloraciones se producen como resultado de la incapacidad del fruto para madurar y colorearse de manera uniforme. El resultado es un tomate jaspeado de coloración rojo-naranja de inferior calidad visual y no comercializable.

TABLA 2: PROPIEDADES DEL PepMV COMPARADAS CON OTROS POTEXVIRUS

Propiedades	PepMV	NMV	PVX
Morfología			
Forma	flexuosa	flexuosa	flexuosa
Longitud (nm)	508	550	515
Diámetro (nm)	11	13-14	13
Proteínas			
ORF1	?	186 (Rep)	166 (Rep)
ORF2	?	26 (Mov?)	24 (Mov?)
ORF3	?	14 (Mov?)	12 (Mov?)
ORF4	?	11 (Mov?)	8 (Mov?)
ORF5	26 (CP)	24 (CP)	30 (CP)
ORF6	?	10	-
Genoma			
Tipo	ARN monocordal	ARN monocordal	ARN monocordal
Polaridad	+	+	+
Longitud	?	6955	6435
Transmisión	Mecánica	Mecánica	Mecánica

Fuente: Brunt et al., 1996.
ORF: marco de lectura abierta.
CP: proteína de la capsida.
Mov: proteína del movimiento.
Rep: replicasa viral.
?: por determinar.

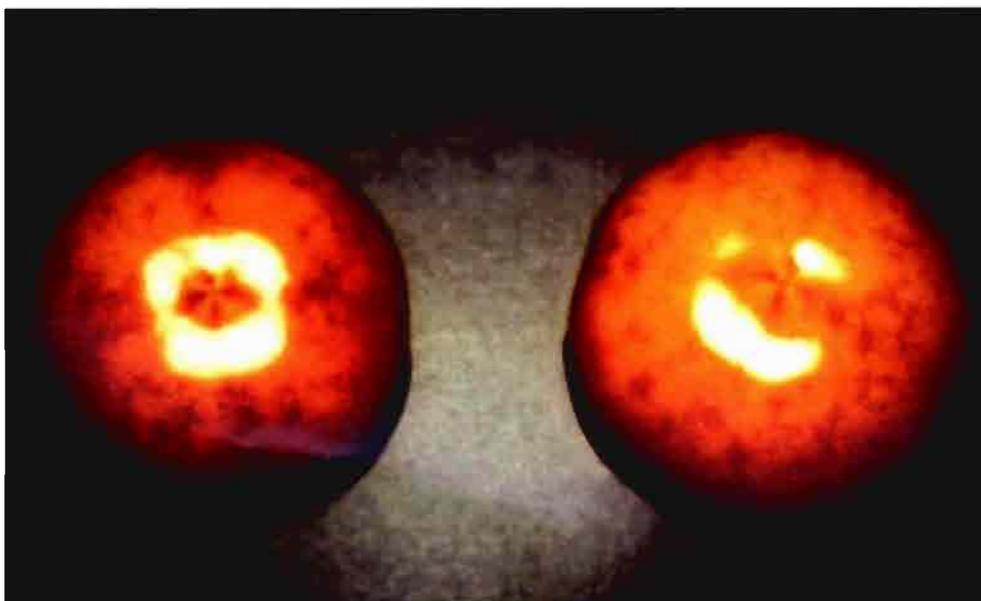
En cualquier caso parece que el síntoma más frecuente y característico de la enfermedad causada por el PepMV en el cultivo del tomate en el sureste español es el "jaspeado" o "manchado" del fruto mientras que el mosaico de las plantas no es muy frecuente y su aparición es dependiente de las condiciones ambientales (Jordá et al., 2000). Así, los síntomas de la enfermedad observados en Inglaterra son más graves que los descritos en Ho-

landa, aún cuando los aislados son idénticos. También hay que tener en cuenta que en las zonas de nuestro país afectadas por la enfermedad se han presentado infecciones conjuntas de este virus con el virus Y y X de la patata (PVY y PVX), lo cual podría estar modificando la sintomatología de la enfermedad.

Morfología de partícula y estructura del ARN

Tanto por su morfología de partícula como por el modo de transmisión, el PepMV fue considerado como miembro del género *Potexvirus* (Tabla 2). El PepMV posee partículas flexuosas de 508 nm de longitud y 11 nm de diámetro, con un canal interior de 3,4 nm de diámetro (Jones et al., 1980). El género *Potexvirus* comprende al menos 30 especies virales, de las cuales el Potato Virus X (PVX) es el miembro tipo (Koenig y Lesemann, 1978). Los *Potexvirus* se caracterizan por presentar partículas flexuosas filamentosas con una longitud que oscila entre los 470 y los 580 nm. Cada una de estas partículas de naturaleza helicoidal contiene una única cadena positiva de ARN que oscila entre los 5845 y los 7015 nucleótidos. El ARN genómico de estos virus se encuentra encapsidado por unas 1.000-1.500 unidades de una única clase de proteína de la cápsida de un peso molecular comprendido entre 21 y 27 kDa (Xu et al., 1995). La tabla 2 muestra la comparación de las características morfológicas, de composición proteica y del genoma del PepMV con el PVX y el NMV.

El ARN genómico de los *Potexvirus* presenta una estructura metilada o CAP (m7GpppG...) en el extremo 5' y está poliadenilado en el extremo 3'. En general los *Potexvirus* presentan 5 marcos de lectura abierta (ORF) o genes en su ARN viral (Tabla 2). La ORF 1 codifica una proteína que contiene tres dominios que guardan homología con secuencias conservadas de metiltransferasa, helicasas con capacidad de unión a nucleótidos y ARN polimerasas dependientes de ARN (Xu et al., 1995). Las ORF 2, 3 y 4 se encuentran solapadas débilmente y se conocen como bloque triple de genes (triple gene block). Los productos proteicos de estas tres ORF son necesarios para la infectividad del ARN viral en planta, pero no indispensables en la infección de protoplastos, y se cree que están involucrados en el movimiento célula a célula de los *Potexvirus* (Beck et al., 1991). La ORF 5 codi-



"Jaspeado" o "manchado" en frutos de tomate. (Gentileza de Dña. M^a Dolores Navarro Acosta).

Mosca Blanca



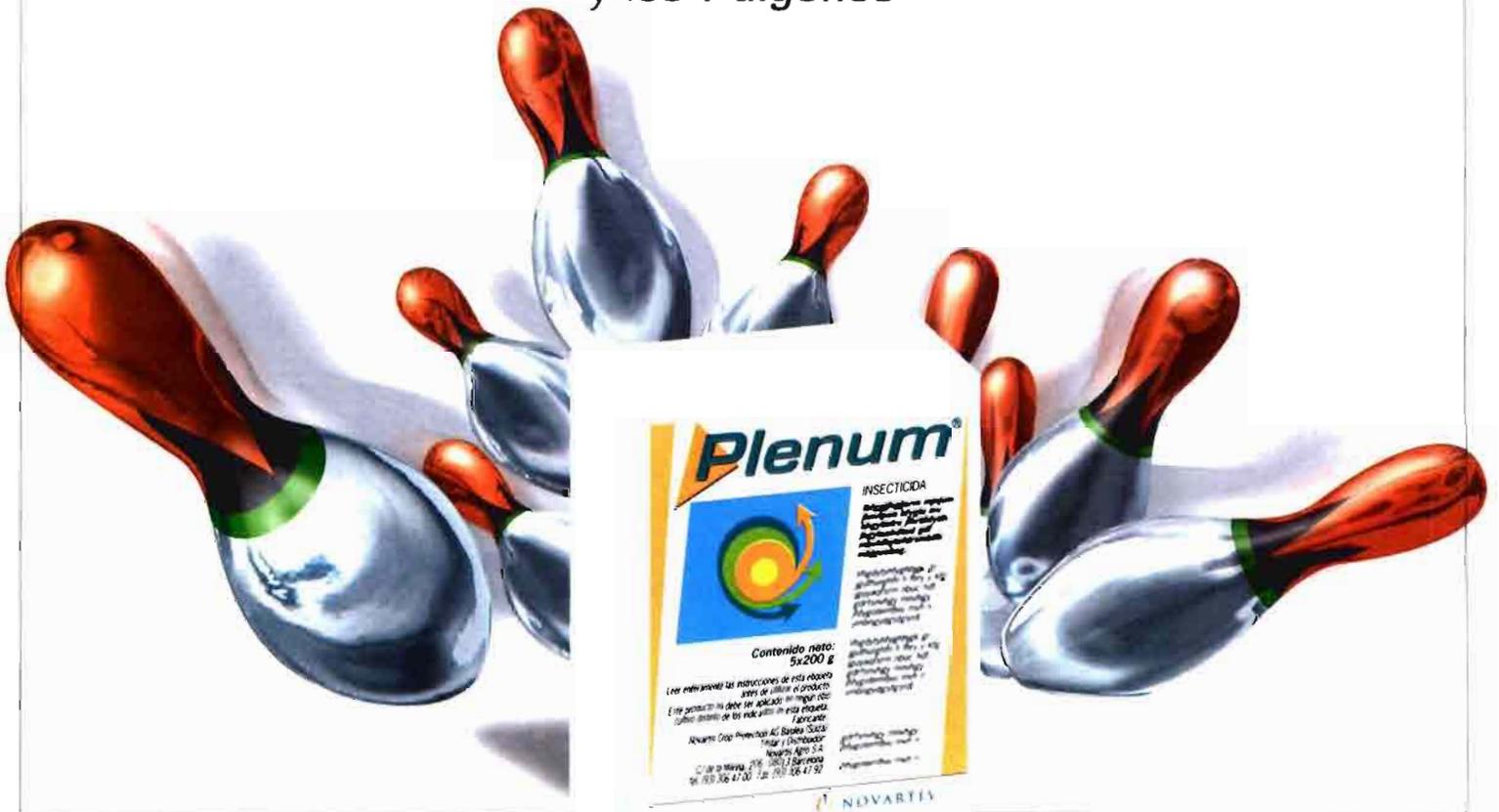
Pulgón



Plenum®

El Insecticida del 2000

Contra la Mosca Blanca
y los Pulgones



Novartis Agro S.A.
Marina, 206 - 08013 Barcelona
Telf.: 933 064 700 - Fax: 933 064 795
Internet: www.cp.es.novartis.com

 **NOVARTIS**

fica para la proteína de la cápsida. Cabe destacar que el Narcissus Mosaic Virus (NMV) presenta 6 ORF. La sexta ORF, no presente en el genoma del PVX codifica para una proteína de 10 kDa de función no conocida. No sabemos cual puede ser la organización genómica del PepMV, pero su genoma podría presentar también esta sexta ORF teniendo en cuenta su estrecha relación con el NMV.

El genoma de los *Potexvirus* se cree que es funcionalmente monocistrónico y sólo la ORF 1 puede ser traducida directamente del ARN genómico. Sin embargo, recientemente se ha comprobado que la proteína de la cápsida del PVX puede ser expresada in vivo a partir de un mensajero dicistrónico (Hefferon et al., 1997). En plantas infectadas por *Potexvirus* pueden producirse tres fragmentos subgenómicos de longitud 900, 1.400 y 2.100 pb respectivamente. Estos fragmentos subgenómicos presentan estructura CAP y cadena poli-A al igual que el ARN genómico. Cada uno de los extremos 5' de estos ARN subgenómicos corresponden con regiones internas genómicas y los extremos 3' son co-terminales con el ARN genómico. Resultados obtenidos in vitro sugieren que la proteína de 30 kDa (ORF2) del PVX se expresa como único producto del fragmento subgenómico de 2.100 pb, las de 12 y 8 kDa (ORF 3 y 4) del fragmento de 1.400 pb que parece ser funcionalmente dicistrónico. La proteína de la cápsida se produce a partir del fragmento de 900 pb. En el caso del PepMV no se conoce el sistema de expresión genómica pero probablemente sea similar al del resto de *Potexvirus*.

Acciones futuras

Conocemos muy poco de la patogénesis y epidemiología de la enfermedad causada por el PepMV en tomate. Es necesario conocer cuantos genes contiene el ARN viral y que función tienen las proteínas codificadas por ellos. De esta forma se podrán desarrollar anticuerpos y sondas específicas que pueden ayudarnos en el conocimiento de su ciclo patogénico. En este sentido Mansilla y Ponz (2000), han desarrollado recientemente cebadores es-

pecíficos para el diagnóstico mediante el sistema de retrotranscripción asociado a la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) del PepMV.

A nivel epidemiológico tendría interés conocer los factores que influyen en el desarrollo y gravedad de los síntomas observados. Así, es necesario profundizar en el conocimiento de la influencia de ciertos factores como la temperatura, luminosidad y estado de desarrollo en la evolución de la enfermedad. La adquisición de todo este conocimiento previo es necesaria para decidir que prácticas culturales pueden ser útiles para el control de la enfermedad a corto plazo. Aunque teniendo en cuenta la extraordinaria eficacia en la transmisión mecánica de este virus parece ineludible que se tenga que recurrir al desarrollo de variedades de tomate resistentes como mejor estrategia de lucha contra la enfermedad. ■



Presencia de líneas sinuosas cloróticas en hoja de una planta de tomate infectada por Pep MV.

BIBLIOGRAFÍA

- Beck, D. L.; Guilford, P. J.; Voot, D. M.; Andersen, M. T.; Forster, R. L. S. (1991). Triple gene block proteins of white clover mosaic Potexvirus are required for transport. *Virology* 183: 695-702.
- Brunt, A. A. (1966). Narcissus mosaic virus. *Ann. Appl. Biol.* 58: 13-23.
- Brunt, A. A.; Crabtree, K.; Dallwitz, M. J.; Gibbs, A. J.; Watson, L.; Zurcher, E. J. (1996). *Viruses of Plants. Descriptions and Lists from the VIDE Database.* CAB International. Wallingford, Reino Unido. <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vid/>.
- EPPO (2000). EPPO Alert List-Viruses. Pepino mosaic Potexvirus - a new virus of tomato introduced into Europe. <http://www.EPPO.ORG/html/viruses.html#pepino>.
- Hefferon, K. L.; Khalilian, H.; Xu, H.; AbouHaidar, M. G. (1997). Expression of the coat protein of potato virus X from a dicistronic mRNA in transgenic potato plants. *J. Gen. Virol.* 78: 3051-3059.
- Jordá, C.; Lázaro, A.; Font, I.; Lacasa, A.; Guerrero, M. O. M.; Cano, A. (2000). Nueva enfermedad en el tomate. *Phytoma España* 119: 23-28.
- Jones, R. A. C.; Koenig, R.; Lesemann, D. E. (1980). Pepino mosaic virus, a new Potexvirus from pepino (*Solanum muricatum*). *Ann. Appl. Biol.* 94: 61-68.
- Koenig, R.; Lesemann, D. E. (1978). Potexvirus group. *CMI/AAB Descrip. Plant Vir.* 200.
- Mansilla, C.; Ponz, F. (2000). Diagnóstico molecular del virus del mosaico del pepino dulce. X Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Valencia 3-6 de Octubre 2000.
- Monnet, Y.; Thibault, J.; Béliard, E.; Cauquis, F. (2000). Les cultures légumières et le fraisier en 1999. *Phytoma-La Défense des Végétaux* 525: 20-25.
- Mowat, W. P. (1971). Narcissus mosaic virus. *Commonwealth Mycological Institute/Association of Applied Biologists. Descriptions of plant viruses* 45.
- Soler, S.; Nuez, F. (2000). Identificación de fuentes de resistencia en tomate al virus del mosaico del pepino dulce (PepMV). X Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Valencia 3-6 de Octubre 2000.
- Van der Vlugt, R. A. A.; Stijger, C. C. M. M.; Verhoeven, J. T. J.; Lesemann, D. E. (2000). First report of Pepino mosaic virus on tomato. *Plant Dis.* 84: 103.
- Wright, D.; Mumford, R. (1999). - Pepino mosaic Potexvirus (PepMV). First records in tomato in the United Kingdom. *Plant Disease Notice* 89. Central Science Laboratory, York.
- Xu, H.; Leclerc, D.; Leung, B.; AbouHaidar, M. G. (1994). The entire nucleotide sequence and genomic organization of potato aucuba mosaic virus. *Arch. Virol.* 135: 461-469.