

Detección de Orthotospovirus en un área suburbana de producción de hortalizas

Detection of Orthotospovirus in a suburban vegetable-producing area



CU-ID: 2247/v37n1e01

Heidy González-Álvarez*, Lidia Chang-Sidorshuk, Yamila Martínez-Zubiaur

Grupo de Fitopatología, Dirección de Sanidad Vegetal, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Carretera Tapaste y Autopista Nacional, Km 23 ½ Apartado 10, CP. 32 700, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

RESUMEN: Los Orthotospovirus son virus ARN transmitidos por trips (*Thysanoptera*: Thripidae). Desde el siglo pasado se considera una de las plagas de mayor importancia económica; en la actualidad las pérdidas ocasionadas por TCSV continúan siendo un factor importante a tener en cuenta en las diferentes áreas productoras de hortalizas y granos en Cuba. Se colectaron 72 muestras de tomate, lechuga, zanahoria, habichuela y pimiento que mostraban los síntomas característicos de la infección por tospovirus durante los años 2018-2020 (noviembre a enero) en la finca “Las Piedras”, Guanabacoa. Las muestras se analizaron por DAS-ELISA para la detección de TSWV, GRSV y TCSV. Se obtuvieron 26 muestras positivas, correspondientes a los cultivos de tomate y habichuela. Este resultado corrobora la posibilidad de usar las técnicas serológicas para la detección viral de orthotospovirus en áreas de producción intensiva de tomate, como la finca “Las Piedras”, y se sugiere que el cultivo de habichuela está actuando como hospedante de virus. La presencia de orthotospovirus en el cultivo del tomate constituye un alto riesgo para la producción de alimentos y de cultivos de impacto económico, dado a la incidencia y polifagia del vector en las áreas productoras de papa, tabaco, frijol y otras hortalizas.

Palabras clave: DAS-ELISA, Orthotospovirus, tomate.

ABSTRACT: Orthotospoviruses are RNA viruses transmitted by thrips (*Thysanoptera*: Thripidae). They have been considered one of the most economically important pests since the last century and today the losses caused by TCSV keep being an important factor to take into account in the different vegetable and grain producing areas in Cuba. Seventy-two samples of tomato, lettuce, carrot, cow pea, and pepper showing characteristic symptoms of infection by orthotospoviruses were collected in 2018-2020 (November to January) at the “Las Piedras” farm, Guanabacoa. The samples were analyzed by DAS-ELISA to detect TSWV, GRSV and TCSV. Twenty-six samples, corresponding to tomato and cow pea, resulted positive. These results corroborate the possibility of using serological techniques to detect orthotospoviruses in areas of intensive tomato production like “Las Piedras” farm and suggest that the cow pea crop can act as a viral host. The presence of orthotospovirus in tomato constitutes a serious risk for production of other crops of high economic impact because of the wide host range and the incidence of its transmitting vector in the producing areas of potato, tobacco, beans and other vegetables.

Key words: DAS-ELISA, Orthotospovirus, tomato.

Los Orthotospovirus (1) son virus ARN que pertenecen a la familia *Bunyaviridae* y son transmitidos por trips (*Thysanoptera*: Thripidae). Son los únicos miembros de esta familia capaces de infectar aproximadamente 700 especies de plantas, muchas de ellas de interés económico (tomate, pimiento, frijol, papa) (2). Este género está integrado por diferentes especies de virus: *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), especie más ampliamente distribuida a nivel mundial. Sin embargo, *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV) y *Groundnut ring spot virus* (GRSV) también ocasionan daños devastadores en estos cultivos de importancia económica (3).

En Cuba se confirmó la presencia de este género viral en el cultivo del tomate en 2016, particularmente la especie TCSV (4). En la actualidad, las pérdidas ocasionadas por TSWV y TCSV son un factor importante a tener en cuenta en las diferentes áreas productoras de tomate en Cuba.

El uso del ensayo inmunoenzimático con doble anticuerpo DAS-ELISA (*del inglés double-antibody sandwich enzyme-linked immunoabsorbent assay*) para la detección de orthotospovirus constituye una ventaja para el diagnóstico de la enfermedad, ya que permite procesar una mayor cantidad de muestras a menor costo. El objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia de TCSV y TSWV en la finca “Las Piedras”, mediante DAS-ELISA.

En el estudio se colectaron 72 muestras de los cultivos tomate (*Solanum lycopersicum* L.), lechuga (*Lactuca sativa* L.), zanahoria (*Daucus carota* L.), habichuela (*Vigna unguiculata* L.) y pimiento (*Capsicum annuum* L.). Los muestreos se realizaron durante los años 2018 a 2020, en los meses de noviembre a enero, en la finca “Las Piedras”, municipio Guanabacoa. Las muestras colectadas presentaban síntomas característicos de infección por orthotospovirus.

*Correspondencia a: Heidy González-Álvarez. E-mail: hgonzalez@censa.edu.cu

Recibido: 20/09/2021

Aceptado: 24/12/2021

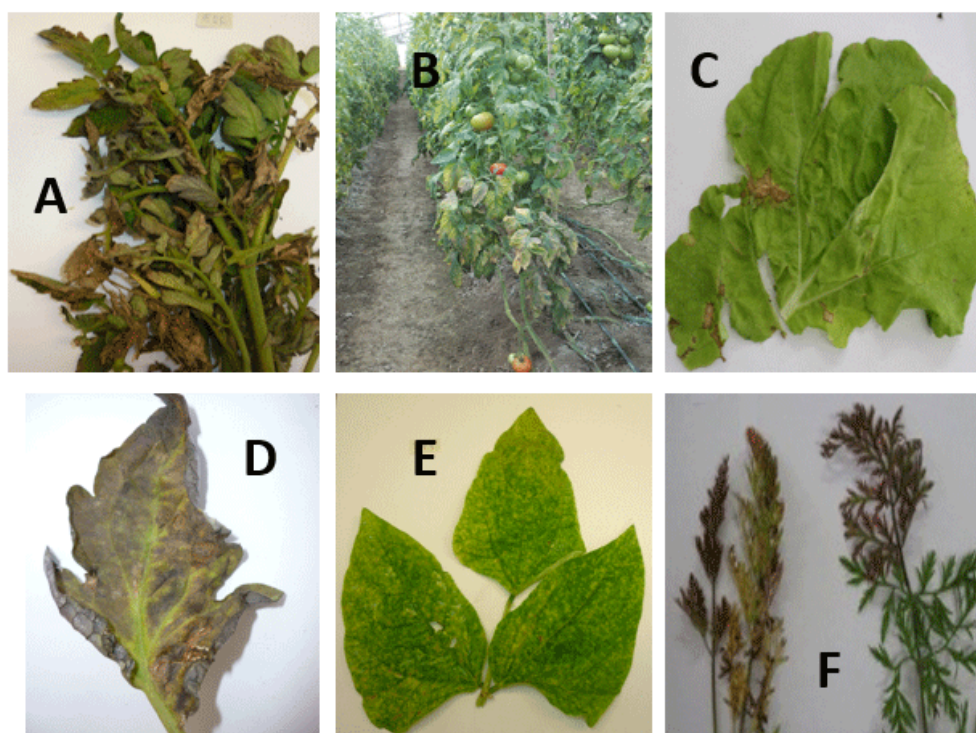


Figura 1. Síntomas observados en los diferentes cultivos existentes en la finca “Las Piedras”. A, B, D: Tomate, C: Lechuga, E: Habichuela, F: Zanahoria. / *Symptoms observed in the different crops existing on the “Las Piedras”, farm. A, B, D: Tomato, C: Lettuce, E: Cow pea, F: Carrot.*

Todas las muestras se analizaron por DAS-ELISA; para ello se utilizaron los juegos de reactivos para el diagnóstico de *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) (SRA 39300/0500) y para *Groundnut ringspot virus* y *Tomato chlorotic spot virus* (GRSV & TCSV) (SRA 61000/0500) (Agdia Inc., Indiana USA), siguiendo los protocolos proporcionados por el fabricante. Cada muestra fue diluida a 1:5 (peso : volumen) con el buffer de extracción general incluido en el juego de reactivos (GEB 1X). Como controles negativos y positivos de la enfermedad se utilizaron los suministrados por el fabricante. También se incluyeron en el análisis muestras positivas estudiadas en años anteriores, en las que se confirmó la presencia de los virus por técnicas de biología molecular (4).

Las 72 plantas colectadas mostraron síntomas característicos de infección por orthospovirus: bronceado, encrespamiento, manchas necróticas en las hojas, líneas y puntos carmelita oscuro en los peciolos de las hojas, hojas liláceas, lesiones necróticas en el tejido epidérmico del tallo y peciolos y, en menor grado, síntomas de amarillamiento, mosaico y mosaico dorado. También se observaron, principalmente en las plantas de tomate, frutos con manchas cloróticas y deformaciones (Fig. 1) (5).

Al analizar las 72 muestras por ambos juegos de reactivos para DAS-ELISA, se detectaron 26 muestras positivas, correspondientes a los cultivos de tomate y habichuela (1). En el caso del cultivo del tomate, 10 muestras resultaron positivas solo para TSWV, dos

para GRSV y TCSV y 13 fueron positivas tanto para TSWV como para GRSV y TCSV.

Teniendo en cuenta el número de muestras positivas que coinciden en ambos casos, se confirmó que los juegos de reactivos utilizados en este ensayo inmunoenzimático no permitieron determinar la presencia de una especie viral u otra. Este resultado coincide con lo planteado por Warfield *et al.* (2015), quienes informaron previamente que el juego de reactivos para el diagnóstico de TSWV muestra reactividad cruzada con aislados de GRSV y TCSV. Lo mismo sucede en el caso del diagnóstico de TCSV y GRSV, donde existe una reacción cruzada débil con aislados de TSWV. Tanto TCSV como TSWV son orthospovirus y la reactividad cruzada leve no es nueva entre virus relacionados en los sistemas de prueba de anticuerpos policlonales (6).

A pesar de que pueda existir reactividad cruzada, el uso de estos juegos de reactivos para el diagnóstico constituye una vía rápida para el monitoreo y la detección temprana de estas especies virales en las áreas productoras, lo que permite la toma de decisiones rápidas para el manejo. Su aplicación en países como Colombia (7), Taiwán, Japón (8) y Chile (9) confirman su utilidad en el diagnóstico de diferentes especies virales que afectan las producciones de hortalizas a nivel mundial. Por estas razones, su uso en Cuba sería factible para el diagnóstico viral temprano en áreas suburbanas de producción de hortalizas, como la finca “Las Piedras”; se evitaría la diseminación de estos

virus, considerados una de las principales causas de pérdidas en la producción hortícola en la región.

Sin embargo, continúa siendo una necesidad la confirmación de las especies virales por técnicas de biología molecular, a fin de lograr la caracterización del genoma con mayores especificidad y sensibilidad en el diagnóstico y su implementación con el objetivo de apoyar programas como la búsqueda de genotipos resistentes o tolerantes (10).

Según los resultados obtenidos, los orthotospovirus no solo están presentes en el cultivo del tomate, sino también en el cultivo de habichuela. Este cultivo puede actuar como hospedante, tanto del virus como de especies de trips, vector que permite su diseminación (11).

La presencia de estas especies virales en áreas de producción, fundamentalmente de tomate, constituye un riesgo, por sus posibilidades de diseminación y afectación de otros cultivos clave para la producción de alimentos y la economía del país, como son papa, tabaco, frijol y otras hortalizas.

REFERENCIAS

1. Peter J, Stuart G, Elliot J, Arcady R, Evelien M, Donald M, *et al.* Changes to virus taxonomy and the Statutes ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses. Archives of Virology 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04752-x>
2. Ferrand L. Caracterización de aislamientos argentinos de *Tomato spotted wilt virus* que quiebran la resistencia mediada por el gen *Tsw* en *Capsicum annuum* L. [Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias]. Universidad Nacional de la Plata, La Plata, Argentina. 2017. Disponible en <https://doi.org/10.35537/10915/59592>
3. Ferrand L, Almeida MMS, Orilio AF, Dal Bó E, Resende RO, García ML. Biological and molecular characterization of *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) resistance-breaking isolates from Argentina. Plant Pathology. 2019; 68(9):1587-1601.
4. Martínez-Zubiaur Y, Chang Sidorchuk L, González Álvarez H, Barboza Vargas N, González Arias G. First molecular evidence of *Tomato chlorotic spot virus* Infecting tomatoes in Cuba. Plant Disease 2016; 100(9):1956.
5. Batuman O , Turini TA, Oliveira PV, Rojas MR, Macedo M, Mellinger HC, *et al.* First report of a resistance-breaking strain of *Tomato spotted wilt virus* infecting tomatoes with the *Sw-5* tospovirus-resistance gene in California. Plant Disease 2017. Disponible en <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-16-1371-PDN>
6. Warfield CY, Clemens K, Adkins S. First report of *Tomato chlorotic spot virus* on annual vinca (*Catharanthus roseus*) in the United States. Plant Disease. 2015;99(6):895.
7. Castro E, Quijano M, Velásquez N. Evaluación de la incidencia del *Virus de la marchitez moteada del tomate* (TSWV) en arvenses asociadas al cultivo de crisantemo en el Valle de San Nicolás. Revista Bionatura 2017;2(3):5.
8. Wu PR, Chien WC, Okuda M, Takeshita M, Yeh SD, Wang YC, *et al.* 2015. Genetic and serological characterization of *Chrysanthemum stem necrosis virus*, a member of the genus Tospovirus. Archives of virology, 160(2):529-536.
9. Rojas Bertini CA. Characterization of viral agents present in tomato crops in Arica and Parinacota Region of Northern Chile. [Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias]. Universidad Pontificia Católica de Chile, Santiago de Chile, Chile 2019. Disponible en <https://repositorio.uc.cl/handle/11534/22952>
10. Zardoya R. 35 años de la PCR, la técnica que revolucionó la biología molecular. SEBBM Divulgación la ciencia al alcance de la mano 2019; 03:1
11. González C, Suris M. Especies de trips asociadas a hospedantes de interés en las provincias habaneras. V. Granos, raíces, tubérculos y tabaco. Rev. Protección Veg. 2009;24(1):35

Declaración de conflicto de intereses: Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Contribución de los autores: **Heidy González Álvarez:** participó en la búsqueda de información y pruebas realizadas para evaluar los resultados (realización de DAS-ELISA). Realizó el análisis y la interpretación de los resultados, así como la redacción del artículo. **Lidia Chang Sidorchuk:** participó en la búsqueda de información, en las pruebas para evaluar los resultados y en el análisis de los mismos. **Yamila Martínez Zubiaur:** realizó el diseño de la investigación. Participó en la búsqueda de información, en el análisis e interpretación de los resultados, en la revisión crítica del documento y en la aprobación final.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)