

Estado actual de la lucha contra el virus del bronceado en el tomate

Métodos más eficaces de lucha química, biológica cultural y genética para controlar esta plaga

En España, la importancia y extensión del cultivo del tomate responde a una demanda creciente derivada de su utilización como condimento básico de la cocina mediterránea. Su amplia utilización ha impuesto la exigencia de una gran diversidad de tipos, así como la necesidad de disponer de tomates en todo momento. Ello ha propiciado que se cultive tomate durante todo el año, produciéndose un solape de ciclos de cultivo (tomate precoz, de estación y tardío) y que se intensifique el cultivo protegido. Esta estructura productiva favorece la perpetuación de problemas fitopatológicos que son, entre los factores que afectan y condicionan el cultivo de tomate, los que ocasionan mayores pérdidas económicas, puesto que reducen en gran medida la producción y deprecian el valor comercial de los frutos.

El tomate es susceptible a más de 200 enfermedades. Afortunadamente, gracias a importantes avances de investigación en métodos de control químico, biológico, cultural y genético, los daños que provocan estas enfermedades se han reducido sustancialmente y, en algunos casos, se han eliminado. Sin embar-

El tomate es el cultivo hortícola más importante en España. Según estimaciones del MAPA, la producción de tomate en España en 1998 fue de 3.560.400 tn, sobre una superficie de 60.500 ha.; muy por encima de otros cultivos hortícolas, como la lechuga (1.041.400 tn, en 37.300 ha.), melón (993.400 tn, 43.100 ha.), cebolla (981.500 tn, 24.400 ha.), pimiento (882.800 tn, 22.600 ha.) y sandía (815.900 tn en 21.600 ha.).

Salvador Roselló y Fernando Nuez. Dpto. Biotecnología (Genética). Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. UPV.

go, en el caso concreto de las virosis que afectan al cultivo del tomate en España, hay dos, las producidas por el virus del bronceado del tomate (TSWV) y el virus del rizado amarillo del tomate (TYLCV), que en los últimos años están ocasionando importantes pérdidas debido a

su incidencia generalizada y a su amplia distribución en las principales zonas productoras de tomate. La problemática del TYLCV en España fue descrita en un artículo anterior publicado en esta misma revista (nº 69, 1 de julio de 1998). En el presente trabajo se pretende presentar la situación actual de la lucha contra el virus del bronceado del tomate (TSWV).

Importancia del virus del bronceado del tomate

El virus del bronceado es uno de los patógenos con mayor importancia mundial. La gran magnitud de los daños que provoca es debida a su vasta distribución (se halla ampliamente extendido por las principales zonas hortícolas del área templada y subtropical), a la gran cantidad de plantas a las que infecta (más de 550 especies pertenecientes a más de 70 familias botánicas) y a la amplia distribución y eficacia de los trips que lo transmiten. Entre las especies susceptibles al virus del bronceado, además del tomate, se encuentran cultivos tan importantes como lechuga, pimiento, berenjenas, judías, alcachofas, habas, apio, papaya y



F.1. Coloración bronceada típica de la infección con TSWV.



F.2. "Ringspots" en una hoja de tomate infectada.

plantas ornamentales. En tomate, ha ocasionado y sigue ocasionando pérdidas económicas muy importantes en las principales regiones productoras de Estados Unidos, Brasil, Argentina, Uruguay, México, Australia, Sudáfrica, Asia y Europa, siendo en muchos casos el factor limitante de la producción.

En España, su presencia es importante en todas las zonas hortícolas del litoral mediterráneo, en Extremadura y Canarias (**figura 1**). Su incidencia varía en función de las zonas, de la estación y de los cultivos afectados. En tomate, las principales pérdidas económicas se han producido en Cataluña, Valencia, Murcia y Almería. En estas zonas, los agricultores se han visto obligados, en muchos casos, a buscar cultivos alternativos al tomate, a cambiar las fechas de plantación o, incluso, a abandonar el cultivo en los periodos de mayor presencia del virus.

Sintomatología y diagnóstico

En campo, los primeros indicios de la infección con TSWV los proporcionan los síntomas característicos de la enfermedad. Suele observarse que en el envés de las hojas los nervios adquieren una coloración violácea, pudiendo presentarse manchas de este mismo color en el tejido internervial. El haz toma coloraciones amarillentas y, normalmente, suelen aparecer pequeños puntos necróticos; posteriormente, adquirirá una coloración bronceada característica (**foto 1**). A veces, en el haz de las hojas infectadas pueden observarse anillos necróticos concéntricos o "ringspots" (**foto 2**). En ocasiones, las hojas pueden aparecer como enrolladas hacia el envés o a lo largo del eje principal. En los peciolos de las hojas y en los tallos también pueden observarse manchas necróticas. Los brotes suelen ser afectados gravemente y muestran un aspecto achaparrado y con una coloración amarillenta, apareciendo los folíolos doblados hacia el haz a lo largo del nervio principal; es frecuente también observar cómo aparecen curvados hacia abajo presentando un aspecto de garfio. A medida que evoluciona la enfermedad los brotes normalmente se necrosan y mueren (**fotos 3 y 4**). Los frutos cuajados en plantas severamente infectadas muestran síntomas característicos: tienen un aspecto moteado con manchas circulares concéntricas que alternan tonalidades amarillas o marrones con verdes o rojas, en función del grado de madurez del fruto. A veces, pueden observarse manchas circulares necróticas y necrosis del fruto (**foto 5**).

Sin embargo, el diagnóstico por sinto-



Fig. 1: Distribución e incidencia del TSWV en España.

matología debe considerarse solamente orientativo, ya que presenta una serie de inconvenientes. La aparición y gravedad de los síntomas está condicionada por diversos factores, tales como material vegetal, estado, desarrollo y nivel de nutrición de las plantas en el momento de la infección, el aislado del virus y las condiciones ambientales, aspectos que pueden dificultar el diagnóstico de la enfermedad. Además, la posibilidad de que aparezcan infecciones con varios patógenos simultáneamente hace que los síntomas que muestra la planta puedan resultar confusos.

Por otro lado, las plantas infectadas empiezan a mostrar síntomas, aproximadamente, 15 días después de infectarse y durante este tiempo están actuando como fuente de inoculo. Por ello, para el diagnóstico precoz de las infecciones con TSWV se recurre cada vez más a la utilización de técnicas analíticas en los laboratorios de Centros de Investigación y de Servicios de Protección de Vegetales. Gra-



Fig. 2: Simulación realizada con ordenador de una partícula de TSWV.

cias al trabajo de diversos grupos de investigadores se han puesto a punto técnicas de diagnóstico de TSWV rápidas y precisas. Las más utilizadas están basadas en la detección inmunológica de proteínas del virus. En los últimos años, la técnica Das-Elisa ha sido ampliamente utilizada por ser un método sencillo, rápido, relativamente barato y que permite analizar una gran cantidad de muestras. Actualmente, se dispone también de métodos rápidos de detección basados en inmunocaptura, transcripción inversa y reacción en cadena de la polimerasa (IC-RT-PCR) para la detección de ácidos nucleicos del virus. Estos métodos, aunque son más caros que el Das-Elisa, son mucho más sensibles, permiten diferenciar mejor entre especies de virus y pueden aplicarse eficazmente para detectar infecciones simultáneas de varios virus, por lo que están empezando a utilizarse en la detección simultánea de TSWV, CMV, PVY, TYLCV, AMV y ToMV en la certificación sanitaria de plántulas de semillero.

Interacción virus-vector y transmisión

El virus del bronceado (**figura 2**) tiene unas características biológicas y evolutivas muy complejas. Pertenece al género *Tospovirus*, el único género de la familia *Bunyaviridae* que infecta a plantas. El resto de *Bunyavirus* infectan a animales, siendo transmitidos generalmente por mosquitos. Por su parte, el virus del bronceado es transmitido por trips (**foto 6**). Se han citado distintas especies de tisanópteros como vectores del TSWV. Sin embargo, en España la única especie que muestra eficacia en la transmisión es *Frankliniella occidentalis*.

La transmisión es del tipo propagativo, es decir, persistente, circulativa y replicativa. Las partículas virales son ingeridas por el insecto vector, pasan del aparato digestivo a diversos órganos y células, principalmente a las glándulas salivares, donde el TSWV se multiplicará y desde donde será inyectado posteriormente a otro tejido vegetal cuando el insecto vuelva a alimentarse. Este proceso de multiplicación en el vector es similar al que realiza el virus en plantas hospedadoras (que como resultado del mismo se ven gravemente afectadas), sin embargo, en los trips no se ha observado que cause un incremento de la mortalidad.

Esto pone de manifiesto el elevado grado de adaptación del TSWV para multiplicarse en sus vectores sin dañarlos e incrementar el potencial infectivo de estos, al multiplicar exponencialmente el número de partículas virales que pueden inocular y al hacer posible que los trips adultos infecta-



F.3. Amarilleo, necrosis y deformación en el ápice de una planta de tomate infectada.



F.4. Necrosis en brote gravemente afectado por TSWV.

dos sean transmisores prácticamente durante todo su ciclo vital.

Los trips solamente pueden adquirir el virus en el primer estadio larvario, en estadios posteriores, aunque el insecto se alimente sobre tejido virosado, el proceso circulatorio del virus dentro del insecto no se produce y los trips no resultan infectivos. Este es el motivo de que no todos los trips presentes en campo puedan transmitir el virus del bronceado.

El período umbral de adquisición del TSWV suele ser bastante inferior a una hora, incrementándose la capacidad infectiva del vector con la duración de este período de adquisición. Después, se produce un período de latencia hasta que el insecto es capaz de transmitir el virus, el cual suele durar unos 10 días. En este lapso de tiempo las larvas pupan y emergen como adultos, por lo que en campo son éstos los que presentan una mayor capacidad transmisora.

La eficacia de los trips en la transmisión del TSWV es muy alta ya que, normalmente, un período de inoculación de 10 minutos es suficiente para infectar a una planta sana. Por tanto, un número pequeño de trips puede infectar a una gran cantidad de plantas en un período de tiempo corto.

El enorme potencial adaptativo que manifiesta el virus del bronceado, la amplia distribución que *Frankliniella occidentalis* tiene en la mayoría de las zonas hortícolas españolas, su ciclo biológico relativamente rápido y su elevada capacidad de transmisión hacen que el binomio TSWV-*F. occidentalis* tenga un elevado potencial infectivo.

Epidemiología

Para poder plantear de forma racional medidas de control útiles que reduzcan los daños que provoca el TSWV en tomate, un requisito previo importante es conocer bien los factores que determinan su incidencia y evolución.

Entre los factores que determinan la epidemiología del bronceado en tomate destacan la zona de cultivo, las fechas de plantación y los cultivos próximos, ya que influyen sobre el comportamiento poblacional y la infectividad de los trips. Las zonas costeras se ven mucho más afectadas que las del interior, posiblemente, porque el clima más suave favorece el solapamiento de cultivos a lo largo de todo el año, lo que hace posible la existencia en todo momento de reservorios del virus y hospedantes del vector, y, por tanto, genera un gran entorno infectivo. En las zonas del interior, la época del frío invernal propicia que disminuyan en gran medida, tanto los reservorios del virus en campo, como las poblaciones y la actividad del vector, lo que puede ser determinante para frenar la expansión del TSWV.

La fecha de plantación también condiciona el desarrollo de la enfermedad, habiéndose observado que en las plantaciones tempranas la incidencia de la enfermedad es menor que en las tardías. Estudios llevados a cabo en Cataluña han puesto de manifiesto que en las plantaciones tempranas al aire libre las epidemias se desencadenan a partir de poblaciones grandes, pero con bajos porcentajes de trips infectivos, mientras que en las plantaciones tardías las poblaciones de trips son menores, pero el porcentaje de trips infectivos es mucho mayor. Parece bastante probable que el mayor número de trips infectivos observado en las plantaciones tardías proceda de parcelas tempranas en últimas fases de cultivo que se encuentran situadas próximas.

Control de la enfermedad

Las características epidemiológicas del bronceado del tomate hacen que su control resulte complejo. Tanto el virus como el vector disponen de forma prácticamente ininterrumpida, espacial y temporalmente, de gran cantidad de hospedadores que les permiten perpe-

tuarse en campo. No obstante, existen una serie de medidas culturales que, aunque por sí solas no son capaces de controlar la enfermedad, pueden disminuir su incidencia al retrasar su aparición y frenar su expansión. Estas medidas persiguen reducir el número de reservorios del virus que actúan como focos de infección o dificultar la transmisión del virus por el vector.

a. Disminución de las fuentes de inóculo.

Diversos estudios realizados en las principales zonas productoras de tomate del litoral mediterráneo han puesto de manifiesto que las plantas procedentes de plantales de viveristas no son un foco primario de infección. Los controles a que se someten estas empresas por parte de la Administración certifican que las medidas sanitarias utilizadas garantizan la sanidad de las plántulas comercializadas. Sin embargo, las plántulas procedentes de plantales no controlados sí que pueden representar un foco primario de infección, por lo que conviene evitar su utilización.

En general, las malas hierbas de los ribazos del cultivo muestran niveles de infección con TSWV bajos, aunque para algunas especies (*Convolvulus arvensis* y *Sonchus tenerrimus*) se han citado niveles de infección no despreciables, por lo que también pueden actuar como reservorios del virus. Por ello, sería conveniente eliminarlas cuando aún son pequeñas.

No obstante, se ha comprobado que la principal fuente de inóculo de TSWV la constituyen cultivos infectados en parcelas próximas. Por ello, se recomienda eliminar totalmente los restos del cultivo anterior. No se debe abandonar el cultivo cuando la infección lo hace inviable, pues en este caso resulta un foco de infección muy grande. En estos casos, hay que tratar contra trips antes de eliminar el material vegetal. En los cultivos que se detecten algunas plantas infectadas se deben de

eliminar, ya que la producción de calidad comercial que se obtenga de ellas será escasa y, sin embargo, actuarán como foco de infección para el resto de las plantas de la parcela.

Hay que tener bien presente que todas estas medidas tendentes a disminuir los reservorios de TSWV sólo serán eficaces si las aplican todos los agricultores de la zona.

b. Control de la transmisión

El control del vector presenta mayores dificultades al aire libre que en invernadero, debido a que las parcelas al aire libre son sistemas abiertos en los que existe un movimiento continuo de trips, mientras que en los invernaderos el acceso de los trips puede restringirse más. Los métodos de control de trips con tratamientos químicos pueden aplicarse en ambos tipos de cultivo. Sin embargo, los métodos físicos o biológicos de control del vector solamente pueden ser útiles en cultivo en invernadero.

b.I.- Tratamientos químicos

En el caso de los trips transmisores de TSWV, la utilización de insecticidas se ha mostrado poco eficaz, por una parte, por ser las poblaciones del vector poco sensibles a estos productos y, además, por su localización en lugares escondidos en las plantas. Esto provoca la utilización excesiva de productos químicos, lo que conlleva un incremento de gastos de cultivo y el peligro de residuos en el fruto. Se ha observado que las aplicaciones químicas han dado respuestas satisfactorias en cultivos protegidos, sobre todo en el control del insecto y los daños que puede ocasionar como plaga, no así en cultivo al aire libre o en cuanto al control de la transmisión del virus. Además, se ha descrito la aparición en los trips de resistencias a insecticidas.

Entre las materias activas que vienen utilizándose contra estos tisanopteros destacan: fenitrotion, fosfolan, cipermetrina y deltametrina. También suelen emplearse malation, dimetoato, fenvalerato y naled; sin embargo, estas materias activas deben usarse con precaución y bajo asesoramiento técnico, pues pueden reducir la población de enemigos naturales de los trips.

b.II.- Medios físicos.

La utilización de mallas finas en puertas y ventanas en los invernaderos parece ser una buena solución en este tipo de cultivo, puesto que al dificultar las contaminaciones precoces del cultivo por los trips disminuye la incidencia de la enfermedad. Una modificación de este sistema, también con muy buenos resultados, es el cultivo bajo malla, creándose en su interior un microclima que favorece el desarrollo óptimo de la vegetación al abrigo de insectos, aunque cuando aparece la enfermedad su incidencia tiene mayores repercusiones que cuan-

do el cultivo se realiza bajo plástico. También resulta interesante la utilización de placas pegajosas azules o amarillas para detectar precozmente la presencia del trips en los invernaderos, lo cual permitirá adoptar medidas de control rápidamente.

b.III. Control biológico

La mayoría de los trabajos de control biológico de trips se han llevado a cabo utilizando dos tipos de depredadores no específicos de trips, ácaros fitoseidos del género *Ambliseius* y antocoridos del género *Orius*. Sin embargo, los resultados obtenidos introduciendo estos depredadores en cultivos protegidos de tomate indican que, para mantener la enfermedad por debajo de niveles asequibles, es necesario combinar la lucha biológica con la aplicación de productos específicos compatibles con los enemigos naturales, por lo que las expectativas de futuro de este método de control no son muy esperanzadoras.

Por otro lado, es interesante resaltar que, desde el punto de vista del control biológico, la eliminación de las malas hierbas próximas al cultivo cuando éstas son grandes y con flores es contraproducente, ya que provoca la migración de los trips adultos al cultivo y se eliminan también los enemigos naturales presentes.

Variedades e híbridos resistentes

Disponer de plantas cultivadas resistentes a la enfermedad es la forma más eficaz de protección a largo plazo. Por ello, en las últimas décadas se han realizado intensos esfuerzos para conseguir cultivares con resistencia genética. Dos han sido las principales estrategias de trabajo para la consecución de resistencia genética: la búsqueda de fuentes de resistencia en tomate y especies relacionadas y el desarrollo de plantas transgénicas con resistencia procedente del propio patógeno.

En primer lugar, se abordó la búsqueda de fuentes de resistencia, para, una vez identificada una resis-

tencia útil, transferirla mediante programas de mejora tradicional a variedades e híbridos de interés agronómico. Estos trabajos de cribado en la especie cultivada han permitido identificar resistencia o tolerancia a determinadas razas o aislados del virus. Estas variedades, de origen argentino, brasileño y hawaiano, aunque en condiciones de infección natural, soportan niveles de infección similares a los de las variedades susceptibles, son capaces de desarrollarse normalmente y dar una producción aceptable. El control genético de esta resistencia o tolerancia no ha podido ser determinado de forma clara en todos los casos, no obstante se ha sugerido que entre 2 y 4 genes, algunos de ellos recesivos, son los responsables de la misma. Este control oligogénico hace que la utilización de esta resistencia por parte de los mejoradores no sea sencilla y, sobre todo, la superación de la resistencia o tolerancia por algunos aislados del virus ha orientado la búsqueda de nuevas fuentes de resistencia a otras especies de *Lycopersicon* relacionadas con el tomate.

Se han cribado numerosas entradas de diversas especies, siendo *L. peruvianum* donde se han encontrado mayor número de fuentes con un nivel de resistencia elevado. *L. peruvia-*

senda
salón de ecología y medio ambiente

Barbastro, 21 al 24 Octubre 1999

II Edición

Perfil de los expositores

- Depuración de aguas
- Tratamiento de residuos. Residuos agroindustriales
- Energías alternativas
- Productos ecológicos
- Asesorías medioambientales
- Reforestación y lucha contra el fuego y la erosión
- Repoblación genética y piscícola
- Reciclaje y minimización
- Conservación de la naturaleza
- Formación y sensibilización medioambiental

INSTITUCIÓN FERIA DE BARBASTRO
Avda. Estación, s/n - 22300 BARBASTRO (Huesca)
Tels. 974 51 60 21 / 974 51 16 19 - Fax 974 30 60 60
<http://www.senda.es>
E-mail: senda@ieba.es

El único certamen que muestra la SENDA hacia un mundo rural sostenible

Deja recibir más información sobre:
 Nombre _____
 Dirección _____
 C. P. _____
 Tel/Fax _____
 Empresa _____

Ministerio de Medio Ambiente
Ayuntamiento de Barbastro
GOBIERNO DE ARAGÓN
Comunidad Profesional
Población
Jornadas Técnicas

TABLA 1: HÍBRIDOS COMERCIALES DE TOMATE CON RESISTENCIA AL TSWV.

Híbridos	Casa comercial	Ciclo	Tipo de crecimiento	Estado de madurez del fruto en la recolección	Fruto	Resistencia a otras enfermedades
Maresme	Fitó	Semiprecoz	Indeterminado	maduro	ligeramente aplanado ligero cuello verde mediano grande	ToMV, F2, V
Havanera-R	De Ruiter	Precoz	Indeterminado	maduro	ramillete mediano	ToMV, F2, N
Bond	Seminis	Muy precoz	Indeterminado	pintón	redondo ligero cuello verde mediano grande	ToMV, F2, V, N
Copo	Seminis	Semiprecoz	Rastrero determinado	maduro	aplanado mediano grande	ToMV, F2, V
Bodar	Seminis	Tardío	Indeterminado	verde	redondo ligeramente acostillado cuello verde marcado grande	ToMV, F2, V
San Pol	Fitó	Semiprecoz	Indeterminado	verde	ligeramente aplanado cuello verde marcado grande	ToMV, F2, V
Pineda	Fitó	Semiprecoz	Indeterminado	verde	ligeramente redondo cuello verde marcado grande	ToMV, V

ToMV = Virus del mosaico del tomate. F2 = *Fusarium*, razas 1 y 2. V = *Verticillium*. N = Nemat.

num presenta problemas de cruzabilidad con el tomate cultivado; no obstante, el trabajo de diversos grupos de investigación ha permitido que este inconveniente pueda ser superado en bastantes casos. De esta especie proviene el gen *Sw-5* que, introducido en el tomate cultivado, proporciona unos niveles de resistencia muy elevados. El buen comportamiento de esta resistencia y su control monogénico dominante han propiciado que, actualmente, este gen sea ampliamente utilizado por los mejoradores y que se disponga en el mercado de diversos híbridos de elevado nivel de resistencia y adaptados a las características agronómicas de nuestras zonas de cultivo (tabla 1). Sin embargo, hay que tener en cuenta que la resistencia que proporciona el gen *Sw-5*, aunque es muy elevada, no proporciona inmunidad, sino una resistencia que, en condiciones graves de infección, puede ser superada parcialmente. Esta rotura parcial de la resistencia no es debida a cambios en la virulencia de los aislados presentes en campo ni a errores en la obtención de los híbridos o variedades. Se debe a que este gen puede presentar penetración incompleta, es decir, que una planta que lleve dicho gen puede que no desarrolle una respuesta resistente. Esto explica por qué se han observado en ocasiones algunas plantas infectadas en híbridos o variedades que incorporan este gen de resistencia.

Las técnicas de ingeniería genética se han utilizado para conseguir resistencia derivada del patógeno. Esta estrategia se basa en la obtención de plantas transgénicas que expresen información genética procedente del virus (proteínas de cubierta, ARN antisentido, moléculas defectivas de interferencia, etc.) y que, como resultado de esta expresión, se produzca un bloqueo del ciclo vital del virus en la planta hospedadora y, por tanto, un aborto de la infección. Estas técnicas se han puesto a punto en trabajos experimentales con plantas de tabaco, en las que se han obtenido diversos niveles de tolerancia al TSWV, en función de la estrategia utilizada. No obstante, los intentos de aplicar estas técnicas en tomate han dado resultados poco esperanza-

dores, pues en plantas transgénicas con protección mediada por ARN antisentido se obtienen porcentajes de infección comprendidos entre el 50 y el 80%. Actualmente, no hay en el mercado ningún híbrido comercial obtenido utilizando estas técnicas.

De lo expuesto anteriormente se desprende que el problema que supone el TSWV en tomate no esta resuelto totalmente. Más aún, si se pretende conseguir resistencia durable frente a un patógeno con una capacidad de adaptación y un potencial infectivo tan grande como el del TSWV, es necesario que los investigadores que trabajan en este campo adopten estrategias como la piramidalización de barreras de resistencia frente al patógeno. Este enfoque no se refiere a la práctica habitual de acumular varios genes de resistencia frente a diversos aislados del patógeno, sino que resalta la necesidad de que los genes que se acumulen controlen mecanismos de resistencia distintos, de este modo es muy improbable que la resistencia pueda ser superada.

Siguiendo esta estrategia de actuación, el Grupo de Genética y Mejora Vegetal de la Universidad Politécnica de Valencia está trabajando en la búsqueda de nuevas fuentes de resistencia, en el estudio de los mecanismos que las controlan y en la identificación de marcadores moleculares que permitan seleccionar plantas con varios de estos mecanismos de resistencia. ■



F. 5. Adulto de *F. occidentalis* y (abajo) manchas causadas por TSWV en tomate.