

Virus de cucurbitáceas en el sureste español: viejos conocidos y nuevas amenazas

Miguel Juárez (Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Universidad Miguel Hernández de Elche, Orihuela, Alicante).

Mona A. Kassem, Raquel N. Sempere, Pedro Gómez, Carmen M. Mengual y Miguel A. Aranda (Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS)- CSIC, Departamento de Biología del Estrés y Patología Vegetal, Espinardo, Murcia).

Las enfermedades causadas por virus provocan pérdidas económicas muy importantes en numerosos cultivos, incluyendo las cucurbitáceas (melón, pepino, sandía, calabaza y calabacín, principalmente). Los muestreos que hemos llevado a cabo en Murcia y la Comunidad Valenciana indican que el virus predominante en estas zonas es CABYV, que es ubicuo y se detecta con frecuencias altísimas en plantas que muestran amarilleos. En cultivos de invernadero, o en aquellas zonas donde haya mosca blanca, CYSDV y CVYV pueden constituir un problema importante. En cultivos al aire libre en los que no haya habido mosca blanca, aunque sí pulgones, WMV y PRSV son los virus predominantes. Sin embargo, parece que las mayores amenazas pueden venir por parte de la evolución de los virus presentes, o por la introducción de nuevos virus. Ejemplos clarísimos hallados en nuestro trabajo lo constituye la sustitución de tipos “clásicos” de WMV por tipos “emergentes” y la identificación por primera vez en España de MWMV afectando cultivos de calabacín.

INTRODUCCIÓN

La familia de las cucurbitáceas incluye el melón, la sandía, el pepino, el calabacín y la calabaza. En el año 2011, la producción de estas cinco especies supuso en España más de 2,7 millones de toneladas, alcanzando un valor económico de unos 350 millones de euros (FAOSTAT, 2011). Uno de los principales problemas a los que se enfrenta el cultivo de cucurbitáceas es el de las enfermedades, en particular, las causadas por virus. Los equipos de investigación en virus de plantas de la Universidad Miguel Hernández de Orihuela (Orihuela, Alicante) y del Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura-CSIC (Murcia) llevamos colaborando más de 10 años para identificar y caracterizar los virus que causan los problemas más graves en cultivos de cucurbitáceas de la Comunidad Valenciana y de la Región de Murcia. A continuación presentamos algunos de los datos generados.

Virus en cucurbitáceas de Murcia

Durante las temporadas de cultivo de 2003 y 2004 llevamos a cabo muestreos sistemáticos en parcelas comerciales de melón y de calabacín de Campo de Cartagena, en Murcia. Recogimos un total de 924 muestras de plantas con síntomas (mosaicos, amarillos, necrosis, enanismos y otras malformaciones) procedentes de 48 parcelas. Analizamos las muestras para detectar nueve virus citados en

cultivos de cucurbitáceas (Tabla 1). De éstas, el 90% estaban infectadas por al menos uno de los virus considerados. De los virus analizados, el más frecuente con mucho fue CABYV, que estaba presente en el 83% y en el 66% de las muestras de melón y calabacín, respectivamente. En algunas de las parcelas muestreadas, la incidencia de CABYV podía llegar al 100%, con incidencias que oscilaban entre el 20% y el 100%, dependiendo de la parcela. En el caso del melón, CYSDV, BPYV y WMV seguían a CABYV en importancia relativa,

con frecuencias en torno al 20-30%, mientras que en calabacín, CVYV y BPYV estaban en frecuencias entre el 28% y el 21% (Tabla 2). El número de infecciones múltiples fue muy alto (Tabla 3). Los muestreos que hemos llevado a cabo a partir de 2005 son menos detallados, pero indican que lo descrito sigue siendo cierto, aunque con algunas excepciones: la frecuencia de BPYV ha caído drásticamente y pueden haber aparecido algunos nuevos virus (ver más adelante).

Virus	Acrónimo	Familia
<i>Beet pseudo yellows virus</i>	BPYV	<i>Closteroviridae</i>
Virus del falso amarilleo de la remolacha		
<i>Cucurbit aphid-borne yellows virus</i>	CABYV	<i>Luteoviridae</i>
Virus del amarilleo de las cucurbitáceas transmitido por pulgones		
<i>Cucumber mosaic virus</i>	CMV	<i>Bromoviridae</i>
Virus del mosaico del pepino		
<i>Cucumber vein yellowing virus</i>	CVYV	<i>Potyviridae</i>
Virus del amarilleo de las venas del pepino		
<i>Cucurbit yellow stunting disorder virus</i>	CYSDV	<i>Closteroviridae</i>
Virus del amarilleo y enanismo de las cucurbitáceas		
<i>Melon necrotic spot virus</i>	MNSV	<i>Tombusviridae</i>
Virus de las manchas necróticas del melón		
<i>Papaya ring spot virus</i>	PRSV	<i>Potyviridae</i>
Virus de las manchas anulares de la papaya		
<i>Watermelon mosaic virus</i>	WMV	<i>Potyviridae</i>
Virus del mosaico de la sandía		
<i>Zucchini yellow mosaic virus</i>	ZYMV	<i>Potyviridae</i>
Virus del mosaico amarillo del calabacín		

Tabla 1. Virus determinados en muestras de campo, acrónimos y nombres de las familias a las que pertenecen.

Virus	Muestras infectadas (% de infección)		
	Melón ^a	Calabacín ^b	TOTAL
CABYV	583 (83,3)	147 (65,6)	730 (79,0)
CYSDV	220 (31,4)	10 (4,5)	230 (24,9)
BPYV	156 (22,3)	47 (21,0)	203 (22,0)
WMV	149 (21,3)	14 (6,2)	163 (17,6)
CVYV	21 (3,0)	63 (28,1)	84 (9,1)
MNSV	40 (5,7)	1 (0,4)	41 (4,4)
CMV	34 (4,9)	1 (0,4)	35 (3,8)
ZYMV	25 (3,6)	7 (3,1)	32 (3,4)
PRSV	17 (2,4)	3 (1,3)	20 (2,2)

^a El número total de las muestras de melón fue de 700: 213 se recogieron durante 2003 y 487 se recogieron durante 2004. Las muestras provenían de plantas con síntomas de infección por virus (mosaicos, necrosis, amarillos).

^b El número total de las muestras de calabacín fue de 224: 108 se recogieron durante 2003 y 116 se recogieron durante 2004. Las muestras provenían de plantas con síntomas de infección por virus (mosaicos, necrosis, amarillos).

Tabla 2. Frecuencias de los virus identificados en muestreos en cultivos de melón y calabacín en Campo de Cartagena (Murcia).

Virus en cucurbitáceas de la Comunidad Valenciana

Los muestreos más exhaustivos que hemos realizado en la Comunidad Valenciana han sido durante las temporadas de cultivo de 2005 y 2006. En este caso muestreamos parcelas de cultivos comerciales de melón, calabacín y calabaza, sandía y pepino, todos al aire libre menos el pepino, que se cultivaba en invernadero. Las muestras se utilizaron para detectar los nueve virus mencionados (Tabla 1). En este caso recogimos 1.767 muestras de plantas con síntomas a partir de 122 parcelas. El 93% de las muestras estaban infectadas por al menos uno de los virus considerados. El más frecuente volvía a ser CABYV, aunque en este caso su proporción relativa no era tan alta como en Murcia. En promedio, los porcentajes para los virus detectados con más frecuencia fueron 36%, 27%, 16% y 7% para CABYV, WMV, PRSV y ZYMV, respectivamente, aunque había desviaciones estadísticamente significativas en la distribución de las frecuencias de virus dependiendo del área geográfica (Tabla 4) y del huésped (melón, sandía, calabaza o calabacín). Fue notable la alta frecuencia de muestras de sandía infectadas por WMV (Tabla 5) y los síntomas asociados a in-



Figura 1. Plantas de sandía en cultivos de la Comunidad Valenciana infectadas por WMV. (A) Manchados de fruto, (B) mosaicos acusados y (C) enanismo y malformaciones de frutos.

fección por este virus que observamos en campo (Figura 1). El número de infecciones múltiples fue también muy alto, particularmente para calabacín (Tabla 6). Como hemos dicho para la Región de Murcia, el muestreo descrito fue el más exhaustivo, pero nuestros datos adicionales sugieren que no haya habido cambios significativos durante años más recientes (ver más adelante).

CABYV es el virus prevalente

CABYV fue el virus prevalente tanto en Murcia como en la Comunidad Valenciana, así que decidimos analizar algunos aspectos adicionales sobre este

virus. Los análisis que realizamos mostraron que existen dos tipos genéticos (cepas) de CABYV en Campo de Cartagena (Murcia). Estas dos cepas de CABYV no parecen tener una preferencia por el huésped (melón o calabacín) del que se han recogido, ni por la parcela o el año en el que se han muestreado. Para determinar qué especie de pulgones puede ser la principal transmisora de CABYV, realizamos muestreos de pulgones durante dos años consecutivos en parcelas de melón de Campo de Cartagena. *Aphis gossypii* fue la especie de pulgón que con más frecuencia (35%) capturamos, seguida por *Aphis spiraeicola* (11%). Otras especies abundantes fueron *Acyrtosiphon pisum*,

Infección ^a	Muestras infectadas (% del total de las muestras infectadas) ^b		
	Melón	Calabacín	TOTAL
Doble	299 (46,3)	82 (46,6)	381 (46,5)
CABYV-CYSDV	117 (18,1)	-	117 (14,2)
CABYV-WMV	98 (15,2)	-	98 (11,9)
CABYV-BPYV	52 (8,0)	42 (23,9)	94 (11,4)
CABYV-CVYV	-	29 (16,5)	29 (3,5)
Triple	105 (16,3)	17 (9,7)	122 (14,8)
BPYV-CABYV-CYSDV	99 (15,3)	4 (2,3)	103 (12,5)
Más de tres	22 (3,4)	-	22 (2,7)
PRSV-ZYMV-MNSV-WMV-CABYV	2 (0,3)	-	2 (0,2)
PRSV-ZYMV-MNSV-WMV-CABYV-CVYV	4 (0,6)	-	4 (0,5)
PRSV-ZYMV-MNSV-CMV-WMV-CABYV-CVYV	2 (0,3)	-	2 (0,2)
Total	426 (65,9)	99 (56,2)	525 (63,9)

^a Sólo las combinaciones más frecuentes están indicadas.
^b El total de muestras infectadas por al menos uno de los virus considerados fue de 646 para melón y de 176 para calabacín.

Tabla 3. Infecciones múltiples en Campo de Cartagena (Murcia).

Virus	Muestras infectadas (% infección)			Muestras infectadas (% infección por zona) ^b			
	2005	2006	TOTAL	Zona A	Zona B	Zona C	Zona D
CABYV	251 (39,5)	342 (33,4)	593 (35,7)	294 (39,5)	71 (40,3)	137 (31,0)	91 (30,7)
WMV	187 (29,4)	261 (25,5)	448 (27,0)	175 (23,5)	44 (25,0)	151 (34,2)	78 (26,4)
PRSV	85 (13,4)	189 (18,5)	274 (16,5)	122 (16,4)	28 (15,9)	76 (17,2)	48 (16,2)
ZYMV	33 (5,2)	86 (8,4)	119 (7,2)	36 (4,8)	12 (6,8)	32 (7,2)	39 (13,2)
MNSV	29 (4,6)	62 (6,1)	91 (6,5)	42 (5,6)	0 (0,0)	16 (3,6)	33 (11,1)
CMV	30 (4,7)	48 (4,7)	78 (4,7)	27 (3,6)	14 (8,0)	30 (6,8)	7 (2,4)
CVYV	0 (0,0)	29 (2,8)	29 (1,7)	22 (3,0)	7 (4,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
CYSDV	20 (3,1)	6 (0,6)	26 (1,6)	26 (3,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
BPYV	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

^a El total de muestras analizadas fue de 1.767 provenientes de 122 parcelas diferentes de las zonas indicadas en la Figura 1. Las muestras eran de plantas que mostraban síntomas de infección por virus. Los porcentajes de infección están referidos al número de muestras infectadas por al menos uno de los virus considerados, que fueron 635 y 1.023 para 2005 y 2006, respectivamente, y 744, 176, 442 y 296 para las zonas A, B, C y D, respectivamente.
^b Zonas muestreadas en la Comunidad Valenciana. Se muestrearon durante 2005 y 2006 cuatro áreas definidas de acuerdo a sus condiciones agro-ecológicas: Zona A, que incluye Vega Baja del Segura, Pilar de la Horadada y Campo de Elche. Zona B, que incluye Valle de la Albaida y Alto Vinalopó, donde un clima más fresco desplaza temporalmente las estaciones con respecto a otras zonas. Zona C, que incluye Campo del Turia, Ribera Baja y Ribera Alta del Júcar, Huerta Norte y Sur de Valencia, donde la sandía es la cucurbitácea que predomina. Zona D, que incluye Bajo Maestrazgo y Plana Baja de Castellón, donde predomina el cultivo intensivo de melón.

Tabla 4. Frecuencias de los virus identificados^a en muestreos en cultivos de cucurbitáceas (melón, sandía, pepino, calabacín y calabaza) en cuatro zonas agroclimáticas de la Comunidad Valenciana.

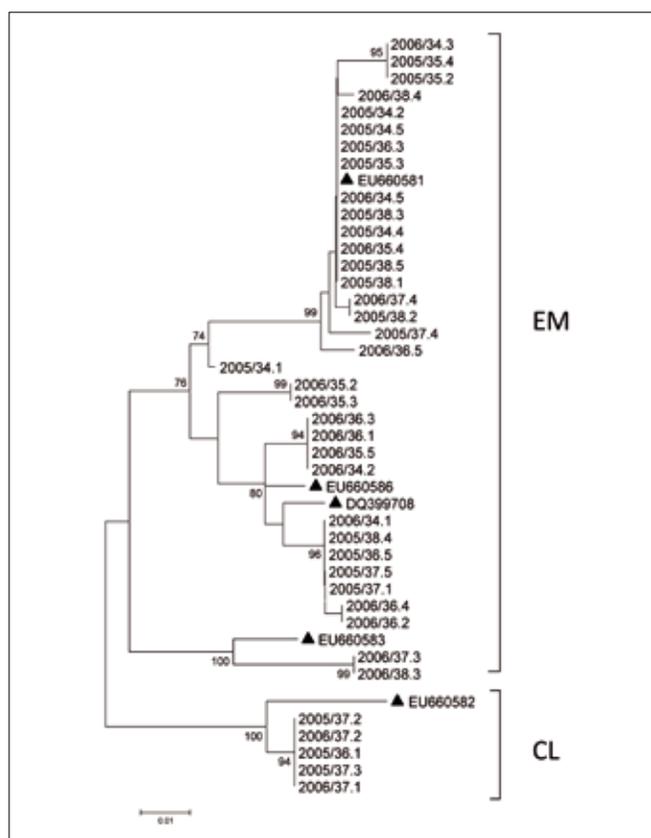


Figura 2. Árbol filogenético que muestra el parentesco entre aislados de WMV. Se han incluido aislados de WMV recogidos en la Comunidad Valenciana entre los años de 2006 y 2007 junto con otros aislados franceses de referencia (marcados con ▲). El nombre de los grupos se indica a la derecha del árbol: EM, aislados “emergentes”; CL, aislados “clásicos”.

Aploneura lentisci y *Hyalopterus pruni*. Una proporción elevada de los individuos de *A. gossypii* (70%) contenía CABYV. Por lo tanto, es muy probable que ésta sea la principal especie transmisora de CABYV en el campo. En estos mismos muestreos incluimos también plantas adventicias y plantas cultivadas no cucurbitáceas. De las plantas silvestres analizadas, la que con más frecuencia resultó estar infectada por CABYV fue *Echballium elaterium* (pepinillo

del diablo); de las plantas cultivadas que analizamos, ninguna resultó estar infectada por CABYV.

La cepa “emergente” de WMV y el virus marroquí del mosaico de la sandía (*Moroccan watermelon mosaic virus*, MWMV) pueden suponer amenazas importantes

Tras CABYV, WMV fue el virus predominante en la Comunidad Valenciana y también estuvo entre los predominantes en Murcia. Como para CABYV, decidimos analizar la variabilidad genética de WMV, sobre todo porque en el Sur de Francia se había descrito un desplazamiento de cepas “clásicas”, menos agresivas, por cepas “emergentes”, más agresivas en calabacín. Los análisis que llevamos a cabo mostraron que los aislados valencianos de WMV eran mayoritariamente del tipo “emergente” (Figura 2). Estos resultados sugieren que en esta zona, como en el Sur de Francia, los aislados “emergentes” de WMV están desplazando o han desplazado a los aislados “clásicos”.

Virus	Melón	Sandía	Pepino	Calabacín	Calabaza
CABYV	259 (41,3)	190 (31,8)	46 (34,3)	62 (26,8)	36 (54,5)
WMV	149 (23,8)	191 (31,9)	22 (16,4)	62 (26,8)	24 (36,4)
PRSV	85 (13,6)	134 (22,4)	0 (0,0)	53 (22,1)	2 (3,0)
ZYMV	22 (3,5)	36 (6,0)	33 (24,6)	28 (12,1)	0 (0,0)
MNSV	75 (12,0)	16 (2,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
CMV	37 (5,9)	14 (2,3)	11 (8,2)	12 (5,2)	4 (6,1)
CVYV	0 (0,0)	17 (2,8)	4 (3,0)	8 (3,5)	0 (0,0)
CYSDV	0 (0,0)	0 (0,0)	18 (13,4)	8 (3,5)	0 (0,0)
BPYV	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

^a Las muestras eran de plantas que tenían síntomas de infección por virus. Los porcentajes de infección están referidos al número de plantas infectadas por al menos uno de los virus considerados, que fueron 627, 598, 134, 233 y 66 para melón, sandía, pepino, calabacín y calabaza, respectivamente.

Tabla 5. Frecuencias de los virus^a identificados en muestras de melón, sandía, pepino, calabacín y calabaza en la Comunidad Valenciana.



Figura 3. Plantas de calabacín en cultivos de la Región de Murcia infectadas por MWMV. (A) Mosaicos acusados en hojas, (B) enanismo y (C) malformaciones de frutos.

Infección ^a	Muestras infectadas (% del total de las muestras infectadas) ^b					Total
	Melón	Sandía	Pepino	Calabacín	Calabaza	
Doble						
WMV+PRSV	88 (16,4)	75 (14,3)	0	34 (23,4)	2 (3,4)	199 (14,3)
WMV+CABYV	78 (14,5)	39 (7,5)	7 (5,4)	32 (22,1)	11 (19,0)	167 (12,0)
WMV+ZYMV	32 (5,9)	25 (4,8)	13 (10,1)	23 (15,9)	0	93 (6,7)
WMV+CMV	10 (1,9)	22 (4,2)	7 (5,4)	7 (4,8)	1 (1,7)	47 (3,4)
Triple						
WMV+CABYV+PRSV	19 (3,5)	11 (2,1)	0	19 (13,1)	0	49 (3,5)
WMV+CABYV+ZYMV	3 (0,6)	3 (0,6)	5 (3,9)	16 (11,0)	0	27 (1,9)
WMV+CVYV+PRSV	0	1 (0,2)	4 (3,1)	2 (1,4)	0	7 (0,5)
WMV+CABYV+MNSV	6 (1,1)	0	0	0	0	6 (0,4)
Más de tres						
WMV+CABYV+PRSV+ZYMV+MNSV	3 (0,6)	0	0	0	0	3 (0,2)
Total	239 (44,4)	176 (33,6)	36 (27,9)	133 (91,7)	14 (24,1)	598 (42,9)

^aSólo se indican las combinaciones más frecuentes.

^b El total de muestras de melón, sandía, pepino, calabacín y calabaza infectadas por al menos uno de virus considerados fue 627, 598, 134, 233 y 66, respectivamente.

Tabla 6. Infecciones múltiples en cucurbitáceas en la Comunidad Valenciana.

En lo descrito hasta aquí hemos considerado los nueve virus más frecuentemente citados en cucurbitáceas. Sin embargo, pueden aparecer y llegar a ser importantes otros virus distintos, como describimos a continuación. Durante 2009 y 2010 observamos en Murcia plantas de calabacín que mostraban síntomas graves de enfermedad, incluyendo mosaicos marcados en hojas y bandeado de venas (Figura 3A), enanismo (Figura 3B) y malformaciones notables de fruto (Figura 3C). Llevamos a cabo análisis que nos indicaron que una parte de esas plantas estaban infectadas por WMV de tipo “emergente”, pero otra parte lo estaba por el virus marroquí del mosaico de la sandía (*Moroccan watermelon mosaic virus*, MWMV; de la familia de los potyvirus). Obtuvimos un aislado puro de MWMV con el que pudimos inocular en condiciones experimentales plantas de distintas variedades comerciales de calabacín. Todas las plantas inoculadas de todos los cultivares mostraron síntomas obvios de enfermedad a los 7-10 días tras

A	Gravedad de síntomas (0-4)	B
Cultivar		
Berula	3,5	ESPADA
Alexander	3,5	
SF-9423	3,5	YOLANDA
Espada	3,5	
Hobbit	3,7	CASIOPEE
Yolanda	3,5	
Negro Belleza	4	BERULA
Casiopee	3,8	
Pixar	3,8	
Lucía	4	
Cora	3,5	
Amalia	3,5	
Taylor	3,5	
Britante	3	
Charlotte	3,5	
Skandia	3,5	
Amalthee	3,5	
Jedida	3,5	
Kouros	3,2	

Figura 4. Plantas de variedades comerciales de calabacín inoculadas con MWMV. (A) Lista de variedades con una estima numérica de la gravedad de síntomas que induce MWMV basado en una escala de 0 (no síntomas) a 4 (síntomas más graves) (B) Ejemplos de plantas infectadas con MWMV (izquierda) y sanas (derecha) de cuatro variedades; las fotos se tomaron a los 11 días después de la inoculación.

la inoculación. Los síntomas incluían abullonado muy marcado de hojas y clareo y bandeado de venas (Figura 4A). Todas las variedades resultaron ser

muy susceptibles a MWMV, aunque la gravedad de síntomas era distinta de unas variedades a otras (Figura 4B).

Conclusiones

En términos generales puede decirse que existe un grupo de 4 o 5 virus que son los predominantes en los cultivos de cucurbitáceas del Sureste Español. Nuestra experiencia indica que hay variaciones en las frecuencias de los virus probablemente debidas al huésped, pero sobre todo debidas a las condiciones ambientales en las que se lleva a cabo el cultivo. CABYV es ubicuo y se detecta con frecuencias altísimas en plantas que muestran amarilleos.

En cultivos de invernadero, o en aquellas zonas donde haya mosca blanca, CYSDV y CVYV pueden constituir un problema importante. En cultivos al aire libre en los que no haya habido mosca blanca, aunque sí pulgones, WMV y PRSV son los virus predominantes. Llama la atención la alta frecuencia de muestras de sandía infectadas por WMV que hemos encontrado en nuestro trabajo. Sin embargo, parece que las mayores amenazas pueden venir por parte de la evolución de los virus presentes, o por la introducción de nuevos virus.

Ejemplos clarísimos hallados en nuestro trabajo lo constituye la sustitución de tipos “clásicos” de WMV por tipos “emergentes” y la identificación por primera vez en España de MWMV afectando cultivos de calabacín. Esto nos lleva a una última y fundamental conclusión: Es imprescindible un conjunto amplio y muy serio de medidas, que impliquen a productores, técnicos, empresas de semillas, administraciones e investigadores, para evitar las introducciones de nuevos virus en nuestro país.

BIBLIOGRAFÍA

- FAOSTAT**, 2011. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. *Base de datos estadísticos (Online Database)*. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>.
- JUAREZ, M., LÉGUA, P., MENGUAL, M. C., KASSEM, M. A., SEMPERE, R. N., GÓMEZ, P., TRUNIGER, V. y ARANDA, M. A.** 2013. *Relative incidence, spatial distribution and genetic diversity of cucurbit viruses in eastern Spain*. *Ann. Appl. Biol.*, 162:362–370.
- KASSEM, M. A., SEMPERE, R. N., JUÁREZ, M., ARANDA, M. A., y TRUNIGER, V.** 2007. *Cucurbit aphid-borne yellows virus is prevalent in field-grown cucurbit crops of southeastern Spain*. *Plant Dis.* 91:232-238.
- KASSEM, M. A., JUAREZ, M., GÓMEZ, P., MENGUAL, C. M., SEMPERE, R. N., ELENA, S. F., MORENO, A., FERERES A. y ARANDA M. A.** 2013. *Genetic diversity and potential vectors and reservoirs of Cucurbit aphid-borne yellows virus in southeastern Spain*. *Phytopathology*, ID PHYTO-11-12-0280-R.