

El género *Tospovirus* y su importancia en la horticultura

Nélida Granval de Millán¹ y Olga Gracia²

EEA La Consulta INTA, C.C.8 (5567), Mendoza, Argentina

Resumen

El impacto económico de los *Tospovirus* en la agricultura es muy grande si se considera su amplia distribución mundial y la diversidad de hospedantes afectados. Las pérdidas anuales en el mundo superan los mil millones de dólares. Los *Tospovirus* están entre las diez virosis más perjudiciales. El *tomato spotted wilt virus* (TSWV) que pertenece al serogrupo I, tiene distribución mundial. Los pertenecientes al serogrupo II: *groundnut ring spot virus* (GRSV) y *tomato chlorotic spot virus* (TCSV) solo se han encontrado en Brasil, Argentina y Sudáfrica. El *impatiens necrotic spot virus* (INSV), serogrupo III, está presente en Europa y en América Norte, pero no ha sido detectado hasta ahora en Sudamérica.

Son numerosos factores los que interaccionan en el patosistema de los *Tospovirus*, siendo los componentes fundamentales: el virus, el hospedante, el vector y el ambiente.

Los *Tospovirus* en la naturaleza sólo se transmiten de planta a planta por medio de algunas especies de trips (Thysanoptera, Terebrantia, Tripidae). Hasta el presente hay siete especies confirmadas como transmisoras de *Tospovirus*. *Frankliniella schultzei* y *F.occidentalis* son los vectores que actúan en Argentina. Ambos integran la entomofauna de los cultivos hortícolas de Mendoza, donde se ha determinado su rol como transmisores de *Tospovirus*. *F.occidentalis* ha sido introducido en Argentina en 1994. La lista de las plantas susceptibles a *Tospovirus* ya posee más mil especies. Las familias con mayor número de especies susceptibles son Asterácea y Solanácea.

Palabras clave: *Tospovirus* – Trips – TSWV – GRSV – TCSV - INSV

Tospovirus genus and its importance in Horticulture

Summary

The economic impact of *Tospoviruses* is very important in agriculture considering their wide world distribution and the diversity of affected hosts. It is considered that the annual losses that *Tospoviruses* cause in the world overcome one thousand million dollars. *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) is among the top viruses of devastating plants. TSWV belonging to the serogroup I has world wide distribution. Those belonging to serogroup II: *groudnut ring spot virus* (GRSV), and *tomato chlorotic spot virus* (TCSV) have only been found in Brazil, Argentina and South Africa. *Impatiens necrotic spot virus* (INSV) belonging to serogroup III is present in Europe and in North America and it has not been found in South America.

There are several factors interacting in the patosystem of *Tospoviruses*, being the virus, the host, the vector and the environment its fundamental components.

Tospovirus are only transmitted from plant to plant in the nature by means of some species of thrips (Thysanoptera, Terebrantia, Tripidae). In Mendoza, Argentina, *F.schultzei* and *F.occidentalis* act as transmitters. The last one has been introduced recently in Argentina during 1994.

The number of susceptible plants to *Tospoviruses* is reaching over one 1000 species. *Asteraceae* and *Solanaceae* are the families that account the most susceptible species.

Control of virus diseases is basically preventive. Most important practices to keep in mind are to grow tolerant germoplasm in order to avoid the infection sources and to diminish the affluence of vectors.

Key words: *Tospovirus* – Thrips – TSWV – GRSV – TCSV - INSV

Status del género *Tospovirus*

1. Introducción

Los virus son parásitos obligados intracelulares que afectan a la mayor parte de los seres vivos. Se han descrito aproximadamente 800 virus que atacan a las plantas y su estudio reviste características especiales por cuanto estos patógenos prácticamente no pueden controlarse con tratamientos químicos. Están conformados por una o varias moléculas de ácido nucleico, normalmente protegidas por una cubierta de proteína, o proteínas y lipoproteínas.

Los virus organizan su replicación sólo en el interior de las células del huésped y utilizando el mismo mecanismo metabólico del hospedante. Los componentes virales no se encuentran confinados o separados de la maquinaria biosintética de la célula vegetal por membranas biológicas. Por esta razón, los productos químicos que pueden inactivar a los virus, interfieren igualmente con el metabolismo normal de la planta.

Ante la imposibilidad de lucha directa, el control es preventivo, y se basa en evitar la infección o minimizar sus efectos. La resistencia genética presenta la mejor solución en muchos casos. Para ensayar otros métodos en el control de virosis se requieren conocimientos precisos sobre la identidad del virus involucrado y su epidemiología, con el fin de encontrar puntos vulnerables por donde pueda interrumpirse el ciclo de la infección.

En este trabajo se actualizan los conocimientos etiológicos y epidemiológicos de las enfermedades causadas por especies del género *Tospovirus* en Argentina; donde se las conoce con el nombre vernáculo de “peste negra del tomate”.

La historia del “tomato spotted wilt virus (TSWV)” en Argentina, al igual que en Australia, se remonta a los comienzos del siglo. A lo largo de 90 años se han

producido epifitias en forma esporádica desde Salta hasta Río Negro y los *Tospovirus* se han instalado en forma endémica en la flora autóctona. Fawcett en 1938 identificó TSWV como agente causal de las enfermedades conocidas por los agricultores como “peste negra” en tomate y “corcovo” en tabaco (38). También demostró que el virus era transmitido en Tucumán por el tisanóptero *Frankliniella schultzei*, dato que fue corroborado posteriormente (25).

Siendo extraordinaria la difusión de la peste negra en todas las regiones hortícolas del país (72), pudo observarse el comportamiento tolerante del cultivar autóctono de tomate Platense, que producía cosecha cuando todas las variedades importadas eran destruidas por el virus. Se supone que los materiales argentinos Manzana y Rey de los Tempranos, que utilizó Holmes (52) en la búsqueda de resistencia genética, son selecciones de Platense.

Hasta 1990 se citaron numerosas especies cultivadas, malezas, y plantas autóctonas como hospederos de TSWV (20, 40). Con el desmembramiento de TSWV en virus diferentes se plantearon dudas sobre la verdadera etiología de la “peste negra” en el país. Dewey *et al.* (33) citaron en Argentina dos nuevas especies: “groundnut ringspot virus (GRSV)” y “tomato chlorotic spot virus (TCSV)”, confirmando además la presencia de TSWV.

Otro acontecimiento remarcable fue la introducción del vector más temible de esta enfermedad: “*Frankliniella occidentalis* Pergande”, identificado en 1994 en varias provincias (28, 29).

Actualmente, la “peste negra” es una enfermedad endémica, que causa daños considerables en tomate, lechuga, pimiento y otros cultivos en las provincias de Mendoza y Buenos Aires (46, 47).

2. Historia y distribución geográfica

La enfermedad conocida en Argentina con el nombre de “peste negra del tomate” fue descrita primero en Australia por Brittlebank en 1919 (11). Tres años más tarde se encontraba en plantaciones de tomate de todos los estados de ese país. En 1930, Samuel *et al.* (89) caracterizaron al agente causal como un virus transmitido por tisanópteros, al que denominaron “tomato spotted wilt” virus. A partir de entonces, virus similares ó idénticos fueron señalados en países de Europa, América y Asia, afectando diversos cultivos.

Taxonómicamente la “peste negra del tomate” integró el grupo monotípico: “tomato spotted wilt virus group” hasta 1992, cuando fue incluido en la familia *Bunyaviridae* como virus tipo del género *Tospovirus* (44). Paralelamente, aislamientos considerados inicialmente como serotipos de TSWV evidenciaron diferencias suficientes para su descripción como virus distintos, dando origen a las nuevas especies que integran el género: “impatiens necrotic spot virus” (INSV), GRSV y TCSV (42).

Entre los tisanópteros citados como vectores, *F. occidentalis* Perg. es el más eficiente. La dispersión de esta especie en el Hemisferio Norte a partir de 1985 marcó una espectacular eclosión de *Tospovirus* en Estados Unidos de América, Canadá y posteriormente en Europa. La magnitud de los daños que se registraron en diversos cultivos consitaron la atención de investigadores de todo el mundo, y en este momento, los *Tospovirus* y las enfermedades que ellos inducen están entre los temas con mayor aporte de investigación en fitopatología.

3. Daños

El impacto económico de los *Tospovirus* en la agricultura es muy grande, considerando su distribución mundial y la diversidad de hospedantes afectados. Prins y Goldbach (79)

estiman que las pérdidas anuales que provocan en el mundo superan los mil millones de dólares, y consideran que TSWV está entre las diez virosis más devastadoras.

TSWV tiene un amplio rango de hospedantes. En los Estados Unidos de América infecta cultivos industriales, hortícolas y ornamentales, provocando daños que se han incrementado en la última década debido a la difusión del vector *F. occidentalis* Perg. En Hawaii (EUA) la producción de tomate, lechuga y pimiento ha sufrido pérdidas de hasta 90 %, con abandono del cultivo de lechuga en áreas muy contaminadas (17). En Texas (EUA) la especie más atacada es maní (90); en 1986 el TSWV provocó una pérdida de producción de cinco millones de dólares en Frio Counts (97), y los cultivos de invierno, las plantas indígenas y las malezas fueron huéspedes invernales de la enfermedad. INSV ataca preferentemente plantas ornamentales en invernáculos (35). Ha sido detectado pocas veces a campo. Se mencionan cuantiosas pérdidas en el estado de Pensilvania (EUA), donde tuvo que abandonarse el cultivo de *Gloxinia* en invernadero por ser muy susceptible a INSV, y muy atractiva para *F. occidentalis*. También se ha citado infección en cineraria (*Perricallis x hybrida* R. Nordestom), ranunculus (*Ranunculus asiaticus* L.), impatiens (*Impatiens wallerana* Hookf), impatiens de Nueva Guinea (*Impatiens hybrid*), cyclamen (*Cyclamen persicum* Mill), begonia (*Begonia tuber hybrid*), y primula (*Primula* sp. e híbridos). Rosas (*Rosa* sp.) y poinsetias (*Euphorbia pulcherima*) son los únicos cultivos de flores que hasta el momento no han sido atacados por INSV y TSWV. Quizás porque son plantas leñosas y los *Tospovirus* están asociados generalmente a cultivos herbáceos. Tampoco se han producido pérdidas significativas en geranio (género *Perlargonium*).

En Canadá se registró una epifitía de TSWV en Ontario durante 1991; los cultivos afectados fueron tomate y pimiento, cuyos

plantines provenían de Georgia (EUA), y los daños alcanzaron al 85 % de la producción (75). Otras especies devastadas fueron *Lathyrus sativus* y *Pisum sativum* en 1991/92 en Manitoba (110).

En Europa, TSWV se detectó en Italia en 1988 (55, 102), y fue precedido por la expansión del vector *F. occidentalis*. La primera zona afectada fue la Emilia Romana, Liguria, Sicilia. Posteriormente se cita en Toscana, Venecia, Piamonte, Veneto, Apulia, Basilicata y Campania. Produce graves daños en la zona sur en cultivos hortícolas (tomate, pimiento, berenjena, lechuga, alcaucil, achicoria, albahaca) y en la zona norte sobre ornamentales (*Gloxinia*, *Begonia*, *Ranunculus*, *Dieffenbachia* sp., *Aster* sp, *Cyclamen* sp., *Calendula officinalis*, *Gerbera* sp., *Limonium* sp). INSV se encuentra en menor proporción y solo en ornamentales.

En Francia (55), la problemática de los Tospovirus es semejante a la de Italia, solo que el vector *F. occidentalis* Perg. entró un año antes, en 1986. En el sur de Francia hay mayores problemas en hortalizas, y en el norte en ornamentales. El TSWV supera ampliamente a INSV en su difusión.

En España, la aparición de la enfermedad también está relacionada con la entrada de *F. occidentalis*, a través de Almería en 1986 (55). En 1989 se identifica TSWV en tomate y pimiento. INSV ha sido detectado en flores, pero se desconoce hasta el momento su importancia y extensión. TSWV es el agente causal de la virosis que está causando mayor impacto cuantitativo en la horticultura española (55). En Portugal, Louro (63) recientemente ha mencionado la presencia de TSWV y de INSV. Recientemente los Tospovirus también han sido mencionados en Grecia (14).

4. Etiología

Hasta 1990, *tomato spotted wilt virus* era considerado miembro único del grupo taxonómico denominado TSWV Group. En

base a comparaciones sobre las propiedades de TSWV y los virus de la Familia Bunyaviridae (que solo infectaban vertebrados), Milne y Francki en 1984 (64) observaron que había muchas analogías entre ambos. Como resultado de esas similitudes Francki *et al.* (42) en 1991 clasifican al TSWV como miembro de la Familia **Bunyaviridae**, creando el Género **Tospovirus** para los virus que infectan vegetales. Esta propuesta fue aprobada por el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV) en 1991.

4.1. Familia BUNYAVIRIDAE

Esta familia incluye los siguientes géneros: Bunyavirus, Phlebovirus, Hantavirus, Nairovirus, Uukuvirus y **Tospovirus**. La mayoría de los miembros de la familia son transmitidos por artrópodos de un modo persistente y no letal, y se replican en el vector (32).

4.2. Características de los viriones

Los Tospovirus poseen partículas virales esféricas de 80 a 120 nm de diámetro con envoltura lipídica que rodea a la nucleocápside tachonada por partículas glicoproteicas. La nucleocápside a su vez está formada por ARN de cadena simple y una proteína (N). El genoma está compuesto por 3 ARNs de cadena simple, llamados grande, mediano y pequeño [*large* (L), *medium* (M) y *small* (S)], respectivamente. Dichos ARNs forman nucleocapsidos pseudocirculares (nc) con la proteína N.

El genoma de los Tospovirus es tripartito, el fragmento grande ARN L (L *segment* 18,9 kb) es de polaridad negativa y posee un solo marco abierto de lectura (ORF) que codifica para la síntesis de la polimerasa. Los otros dos ARNs utilizan estrategias de codificación bipolar o *ambisense*, y cada uno contiene dos ORFs. El ARN M (M *segment* 4,8 kb) codifica una proteína no estructural NS_M que es

supuestamente la proteína de movimiento, y un precursor común de las glicoproteínas G1 y G2 que forman parte de las espículas proteicas de la envoltura. El ARN S (S *segment* 2,9 kb) codifica para la proteína de la nucleocápside N y para un número variable de proteínas no estructurales (NS).

En síntesis, hasta el momento se ha demostrado presencia de tres proteínas estructurales: N, G1 y G2, más la polimerasa que se encuentra asociada a la *nc*, y dos proteínas no estructurales: NS_S y NS_M.

4.3. Morfogénesis de la partícula viral

A pesar de que el genoma de TSWV está completamente secuenciado, poco se sabe sobre el proceso de infección (76). Después de la inoculación del virus, las partículas virales perderían su envoltura, probablemente por la acción de lisosomas, exponiendo la nucleocápside (*nc*). La proteína N será entonces removida por un proceso aún no definido, liberando los tres ARN_S virales. Estos serían transcritos por las unidades de polimerasas llevadas por el propio virus (característica de los virus ARN negativos) produciendo los correspondientes mARN_S que iniciarán la síntesis proteica. Los virus siguen el proceso de replicación produciendo las proteínas estructurales esenciales para completar el ciclo de infección.

La acumulación de proteína N en las células determinaría un cambio en el modo de transcripción, frenando la síntesis de proteínas y pasando a producir ARN_S genómicos. Éstos ARN_S genómicos serían encapsulados por la proteína N, formando nucleocápsides que podrían ser transportadas a través de los plasmodesmos con la participación de la proteína NS_M (probablemente la proteína de movimiento del virus), para infectar las células vecinas (78).

Las nucleocápsides pueden seguir otro camino que da como resultado la maduración

de partículas virales completas. Para ello la *nc* se rodea de la envoltura viral formada por la membrana lipídica que contiene las glicoproteínas G1 y G2, codificadas por el RNA viral.

El modo preciso en que los Tospovirus adquieren las membranas permanece poco esclarecido. No se han hallado partículas en maduración, posiblemente porque el proceso es muy breve. Se han propuesto tres rutas para el montaje de las partículas que ocurre en el retículo endoplásmico y en las vesículas del aparato de Golgi. Este proceso se llama brotación y está documentado en otros miembros de la familia Bunyaviridae.

Después del montaje, las partículas de virus estarían completas y aptas para ser transmitidas a otras plantas por los trips (78).

4.4. Citopatología

Las partículas virales se acumulan en el citoplasma de las células infectadas en cisternas del retículo endoplásmico (32). Se han encontrado además acumulaciones de material amorfo en el citoplasma (50), constituido por nucleocápsides y en algunos casos por proteína NS_M. También se han observado agregados de apariencia fibrosa que corresponden a proteína NS_S. Se desconoce la función de esa proteína y el significado de su acumulación.

Los Tospovirus parecen ser capaces de invadir todos los órganos vegetativos y tejidos de la planta, a los cuales infectan sistémicamente, incluyendo las células mitóticas (32).

4.5. Ciclo de infección de los Tospovirus en los tejidos de la planta

Los Tospovirus entran a las células de la planta durante la prueba o alimentación de los trips virulíferos. En condiciones de laboratorio la infección puede ser imitada por inoculación mecánica. Después que el virus entra a la

célula, es despojado de la envoltura y los nucleocapsideos infecciosos son liberados al citoplasma. A partir de este momento el ARN viral es transcrito y replicado.

En base a observaciones de procesos de infección de otros virus similares con cadenas negativas, se postula que la transcripción o replicación están controladas por la concentración de nucleocapsideos libres en el citoplasma. Ante una baja concentración de proteína N (por ejemplo al comienzo del proceso de infección) la replicasa producirá ARNs mensajero (**Transcripción**) resultando después de la traducción, en la acumulación de proteínas virales. El aumento de la concentración de proteínas virales, hace que la polimerasa cambie hacia el modo de **Replicación**, por el cual el ARNs será multiplicado. Komerlink *et al.* (58, 59) han estudiado la proteína NSs, que se encuentra formando estructuras paracristalinas en el citoplasma, cuya función es aún desconocida.

Las glicoproteínas G1 y G2 se sintetizan a partir de un precursor común que contiene una señal que le permite la traducción en el retículo endoplásmico. Después de la glicolización y proteolización, las glicoproteínas son transportadas al sitio de brotación. La infección se propaga a las células adyacentes mediante el transporte de nucleocapsideos *nc* (53, 85, 103). No se han encontrado partículas virales maduras en los plasmodesmos.

La proteína de movimiento NS_M es fundamental (98) en el transporte de la nucleocapside de célula a célula. Durante el proceso de infección de la planta, la proteína de movimiento NS_M se expresa tempranamente y en forma transitoria, hallándose asociada a las nucleocápsides y a los plasmodesmos (en la primer etapa) y posteriormente con estructuras tubulares que le permiten penetrar los plasmodesmos. En este transporte tubular circula material de nucleocápsides virales que no contienen su envoltura. Estas estructuras tubulares también

han sido halladas en los protoplastos infectados de células de los insectos vectores, aunque no hay evidencia de su función.

Alternativamente las nucleocápsides forman nuevas partículas virales por asociación con las glicoproteínas en los sitios de brotación del aparato de Golgi ó en el retículo endoplásmico. Estas partículas virales recién formadas pueden ser transmitidas por trips a una planta sana para reiniciar el ciclo de la infección.

4.6. Identificación de los Tospovirus

Por más de 40 años, la variabilidad de TSWV se estudió a través de la expresión de síntomas en plantas indicadoras (69). Mediante estos estudios se clasificaron tres razas de TSWV, y posteriormente se distinguieron 6 cepas (4, 5). Actualmente se considera que la reacción de plantas indicadoras permite diagnosticar a nivel del género *Tospovirus*; pero no es una técnica adecuada para identificar especies, porque se superponen los círculos de hospederos (42). Además debido a la aparición de mutantes (82), ocurre atenuación y supresión de síntomas en plantas indicadoras después de algunas transmisiones del virus por savia.

A partir de los trabajos de Verkleij y Peters (103) que lograron purificar las proteínas N y G1 de TSWV, se incrementó la producción de antisueros policlonales, y consecuentemente se difundió el diagnóstico de *Tospovirus* por métodos serológicos. En 1989, Sherwood *et al.* (91) produjeron el primer anticuerpo monoclonal para detectar virus de plantas que poseen envoltura lipídica, con el cual pudo identificarse TSWV. El uso de antisueros de buena calidad, y de técnicas inmunoenzimáticas con alta sensibilidad han sido claves para diferenciar y caracterizar las especies que integran el género *Tospovirus*. Aquí se incluye la técnica ELISA (enzyme linked immuno sorbent assay), propuesta por Clark y Adams (19).

Otra forma de detectar *Tospovirus* es por RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa reversa) desarrollada por Munford *et al.* en 1994 (66); esta técnica presentaba el inconveniente que sólo era usable para TSWV, y no se podía identificar INSV porque se “sobrelapan” tanto sus rangos de hospederos como su distribución geográfica. Por este motivo los mismos autores (67) perfeccionan la técnica y se pueden reconocer mediante ésta: TSWV, INSV o grupos de *Tospovirus*. En Argentina, Lopez Lambertini *et al.* en 1995 (62) y Ramos *et al.* en 1996 (80) aplicaron esta técnica.

En el Simposio Internacional sobre *Tospovirus* y trips de las flores (Taiwan, 1995), se determinaron tres requisitos básicos para que un aislamiento sea considerado en el género *Tospovirus*:

- * partícula esférica de 70 a 100 nanómetros de diámetro;
- * genoma constituido por tres moléculas de ARN, y
- * transmisión por trips.

De Avila (24) propone que los *Tospovirus* sean clasificados de acuerdo a las características fenotípicas, rango de hospedantes, y características moleculares, fundamentalmente el grado de homología en la secuencia de nucleótidos del gen que codifica para la proteína N. Los estudios que involucran divergencias en proteína N son, hasta hoy, el mejor parámetro para definir especies de *Tospovirus*. El análisis de 21 aislamientos provenientes de diferentes cultivos y áreas geográficas con anticuerpos policlonales y monoclonales preparados para seis aislamientos (24), reveló la presencia de tres serogrupos I, II, III y de dos serotipos. En 1995 Heinze *et al.* (50) adicionaron un cuarto serogrupo IV, con datos obtenidos de un aislamiento de tomate de Taiwan.

En 1991 el ICTV introdujo en la taxonomía de virus el concepto de “especie”. En 1995

fueron aceptados TSWV e INSV. Posteriormente TCSV, GRSV, WSNV y GBNV han sido propuestos como nuevas especies.

Las especies son diferenciadas por su rango de hospedantes, características de transmisión, la secuencia de nucleótidos del gen que codifica la proteína N. Aislamientos que presentan homología en la secuencia de aminoácidos de la proteína N mayor o igual al 90 % se consideran de la misma especie; con homología inferior al 90 % son especies diferentes (83).

En el 4º Simposio Internacional sobre *Tospovirus* y trips de las flores (Wageningen, Holanda, 1998) las especies de *Tospovirus* fueron reunidas tentativamente en 10 serogrupos:

Serogrupo	Especies
Serogrupo I:	TSWV: <i>tomato spotted wilt virus</i>
Serogrupo II:	GRSV: <i>groundnut ring spot virus</i> TCSV: <i>tomato chlorotic spot virus</i>
Serogrupo III:	INSV: <i>impatiens necrotic spot virus</i>
Serogrupo IV:	PBNV: <i>peanut bud necrosis virus</i> = GBNV WSMV: <i>watermelon silver mottle virus</i> WBNV: <i>watermelon bud necrosis virus</i>
Serogrupo V:	PYSV: <i>peanut yellow spot virus</i>
Serogrupo VI:	IYSV: <i>iris yellow spot virus</i>
Serogrupo VII:	PSMV: <i>physalis severe mottle virus</i>
Serogrupo VIII:	CSNV: <i>chrysanthemum stem necrosis virus</i>
Serogrupo IX:	ZLCV: <i>zucchini lethal chlorotic virus</i>
Serogrupo X:	PCFV: <i>peanut chlorotic fan spot virus</i>

La clasificación definitiva surgirá de la próxima reunión del ICTV.

Dos nuevas especies de *Tospovirus*, aún en estudio fueron presentadas en el Simposio mencionado: *potato stem necrosis virus* PSNV (56) y *peanut chlorotic fan-spot virus* PCFV (92).

4.7. Distribución de las especies de *Tospovirus* en el mundo

TSWV perteneciente al serogrupo I tiene distribución mundial (2, 21, 22, 51, 61, 84, 93). Los aislamientos de INSV, serogrupo III provenientes de USA, Holanda, Francia, e Italia son serológicamente indistinguibles. Además de los países mencionados, INSV ha sido reportado causando daños en Portugal, Canadá y Estados Unidos de América (34, 35, 63).

Los *Tospovirus* del serogrupo II, GRSV y TCSV, han sido encontrados sólo en América del Sur (Brasil y Argentina) y Sudáfrica.

En Brasil los virus GRSV, TCSV y TSWV afectan una amplia gama de hospedantes (84). TSWV predomina en el Distrito Federal y en el estado de Paraná, TCSV en el estado de San Pablo. En el nordeste de Brasil solamente se halló GRSV.

Tres nuevas especies han sido caracterizadas recientemente en Brasil (23): CSNV aislado de *Chrysanthemum morilifolium*, ZLCV aislado de zapallo, e IYSV aislado de cebolla.

CSNV fue encontrado en el estado de San Pablo infectando crisantemo, e infectando tomate en el estado de Minas Gerais. Las plantas de crisantemo presentan lesiones necróticas rodeadas por manchas amarillas en las hojas, seguido por necrosis en los tallos, pedúnculos y receptáculos florales. Su rango de huéspedes experimentales es semejante a TSWV.

ZLNV aislado de zapallo e IYSV aislado de cebolla presentan un rango de huéspedes experimentales mucho más restringido que CSNV. ZLCV en plantas de zapallo infectadas a campo induce síntomas cloróticos sistémicos, necrosis de las hojas basales, malformación, curvado de las hojas, disminución del ancho de las mismas, y reducción en el crecimiento.

IYSV fue aislado por primera vez en 1981. Recientemente se llamó “apeca” a la enfermedad que provoca este virus; fue detectada en cebolla en el cultivar Granex 33, en la región de San Francisco estado de Pernambuco. Tempranamente produce lesiones blancas elípticas sistémicas sobre las hojas; luego se transforman en lesiones

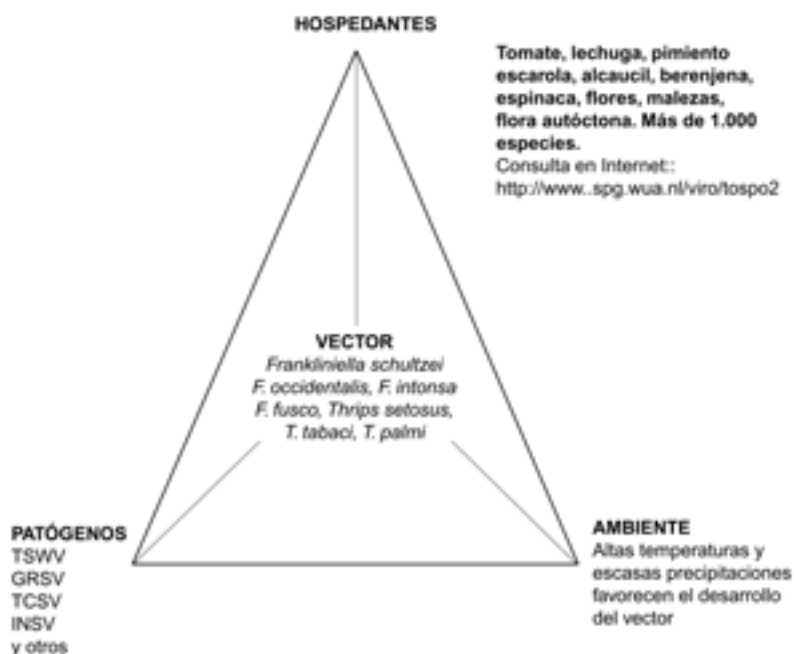


Figura 1. Patosistema de los *Tospovirus*

Tabla 1. Temperatura y precipitación en la Estación Experimental INTA La Consulta; año 1994 versus el promedio de 1978-1997

Meses	T°media mensual 1994 (° C)	T°media mensual 1978-1998 (° C)	Precipitación media mensual (mm) 1994	Precipitación media mensual (mm) 1978-1997
Enero	22,2	21,6	79,5	52,4
Febrero	20,2	20,5	44,5	43,5
Marzo	18,9	18,8	45	32,6
Abril	14,6	14,8	21	25,3
Mayo	11,4	10,7	0	16,7
Junio	8,9	7,2	0	17,4
Julio	6,2	6,7	22	20,2
Agosto	8,6	8,7	1	13,3
Septiembre	12	11,2	2,5	23,1
Octubre	14,7	15	57,4	27,3
Noviembre	19,1	18,1	26,5	32,4
Diciembre	23,4	21,1	3,5	55,6
Total			303	359,8

Fuente: Estación Agrometeorológica de la EEA La Consulta INTA

necróticas como “ojos”, también se presenta la misma sintomatología sobre tallos florales, que a menudo colapsan. Las flores de la umbela se van marchitando una a una y luego abortan. En algunos campos se produjeron pérdidas totales en la producción de semilla. Este aislamiento reacciona por la técnica ELISA con el *Tospovirus* IYSV, aislado de iris en Holanda, indicando que pueden ser razas de un mismo virus.

En Argentina, Dewey (32) demostró en 1995 la presencia de 3 especies de *Tospovirus*. GRSV en aislamientos provenientes de Mendoza, Tucumán, y Río Negro; TCSV de Entre Ríos y TSWV de Buenos Aires y Entre Ríos (32, 33).

Entre 1994/96 se hizo un relevamiento de cultivos de tomate, lechuga y pimiento afectados por peste negra en Mendoza, Buenos Aires, San Juan y Río Negro (46, 47). Los virus analizados fueron TSWV, GRSV, TCSV e INSV. Los resultados demuestran que al menos 3 virus están causando la enfermedad tradicionalmente atribuida a TSWV y ellos son GRSV, TCSV y TSWV. La distribución y ocurrencia de los mismos esta más relacionada con las áreas geográficas que con los hospedantes. GRSV predomina en Mendoza y TSWV en Buenos Aires. El INSV no ha sido detectado hasta el presente en Argentina. Esta situación es similar a la que se registra en Brasil. En

Argentina falta investigar la presencia de CSNV, ZLCV e IYSV.

Epidemiología

Numerosos factores inciden en el patosistema de la “peste negra”, siendo los fundamentales: el virus, los hospedantes, los vectores y el medio ambiente, que interaccionan como se plantea en la Figura 1.

1. Ambiente

Los inviernos secos y benignos crean las condiciones favorables para una alta población de trips, éstos, junto con las fuentes de infección dieron las condiciones ideales en Argentina para generar una epifitía de “peste negra” en Buenos Aires y Mendoza en 1994/95. En La Consulta (33° 44' de latitud sur; 69° 07' de longitud W, y a una altitud de 940 m.s.n.m.), Mendoza, las temperaturas medias mensuales de setiembre, noviembre y diciembre superaron en más de 1 °C a las temperaturas medias de un ciclo de 20 años; también se registraron 56 mm menos de lluvias que el promedio anual (Tabla 1). Situaciones similares se registraron durante la primavera de 1994 y el verano de 1995 en La Plata y en Mar del Plata, provincia de Buenos Aires (27, 47, 101).

2. Vector

Experimentalmente, los *Tospovirus* pueden ser transmitidos por la savia de plantas enfermas, pero en la naturaleza sólo son transmitidos de planta a planta por medio de algunas especies de trips, (Thysanoptera, Terebrantia, Tripidae). Las especies de trips confirmadas como transmisoras de *Tospovirus* son siete; otras requieren confirmación y una no fue confirmada (65, 1045) (Tabla 2).

En Argentina, Fawcett logró en 1938 (38, 39) la transmisión de la “peste negra” con *F. schultzei*. En Mendoza, De Borbón *et al.* (26) obtuvieron transmisiones positivas de TSWV y GRSV con *F. schultzei* y *F. occidentalis*. *Thrips tabaci*, que es un activo vector en otros países como Canadá, España y otras regiones de Europa, no se comportó como tal en nuestro medio. *F. occidentalis*, introducida en

Argentina en 1994 se encuentra en expansión, afectando cultivos ornamentales, hortalizas y frutales en los tres oasis irrigados de la provincia de Mendoza (49, 60). Insectos virulíferos recolectados en los cultivos indican que el vector más difundido y eficiente en campo hasta 1996 era *F. schultzei* (26).

2.1. Características de la transmisión

Sólo las larvas de trips pueden adquirir los *Tospovirus*, mientras que tanto larvas como adultos los pueden transmitir de un modo persistente (107). Van de Wetering (105, 106) demostró que la adquisición de TSWV por *F. occidentalis* ocurre solamente cuando el insecto se halla en el primer estadio larval.

El ciclo de infección comienza cuando el trips adulto hembra coloca los huevos sobre plantas infectadas con *Tospovirus*. Las larvas

Cuadro 2. Tysanopteros vectores de *Tospovirus*

ESPECIE	NOMBRE COMÚN
VECTORES CONFIRMADOS	
Frankliniella fusca (Hinds)	Trips del tabaco
Frankliniella intonsa (Trybon)	
Frankliniella occidentalis (Pergande)	Trips occidental de las flores (WFT)
Frankliniella schultzei (Trybon), forma oscura solamente	Trips común de las flores, o trips del algodón
Thrips palmi Karny	Trips del melón
Thrips setosus Moulton	
Thrips tabaci Linderman	Trips de la cebolla
VECTORES QUE REQUIEREN POSTERIORMENTE CONFIRMACIONES	
Scirtothrips dorsalis Hood (1)	Trips del pimiento
Thrips flavus Schrank (2)	
Frankliniella schultzei (Trybon) forma clara (3)	
VECTORES NO CONFIRMADOS	
Frankliniella tenuicornis (Uzel) (4)	

Referencias: 1) Esta especie ha sido mencionada por Chen *et al.* (15) como vector del PCFV; Mound (65) considera que requiere mayor información para confirmarlo como vector. 2) Mound (65) identificó las muestras de trips clasificadas como *T. flavus* y corroboró que se trataba de un error; correspondían a *T. palmi*. 3) *F. schultzei* existe en dos formas: clara y oscura; Sakimura, en 1970, no logró transmitir el TSWV con la forma clara (87, 88); previo al trabajo de Palmer *et al.* (73) se asumía que el vector del *bud necrosis virus* en maní en India era la forma clara de *F. schultzei*, pero esto también fue un error de clasificación y la verdadera especie transmisora de esta enfermedad es *Thrips palmi*. 4) No hay evidencia de que *F. tenuicornis* haya transmitido *Tospovirus*; probablemente se trate de un error de cita.

adquieren el virus al alimentarse en plantas enfermas, pero no pueden transmitirlo inmediatamente. Necesitan un período de incubación o latencia de varios días denominado tiempo promedio mínimo de adquisición (TPMA). Este período varía con la especie con un mínimo de 4 días, la máxima infectividad se alcanza 22 a 30 días después de la adquisición (100). Los virus pueden ser adquiridos con períodos de alimentación de apenas 15 a 30 minutos (70); períodos más largos hacen más eficiente la transmisión (107).

Una vez que las larvas adquieren el virus, éste persiste en los siguientes estadios larvales y en el adulto (87). Se ha comprobado que los *Tospovirus* se replican dentro de las glándulas salivales y en la musculatura del intestino medio del vector (68, 107). El hecho de replicarse en el vector constituye otra similitud con el resto de la familia *Bunyaviridae* (3).

Los trips son insectos con aparato bucal raspador chupador que se alimentan del citoplasma de las células de la planta (16), adquiriendo así los virus que están en él. Una vez adquirido el virus, es retenido por el trips durante su desarrollo pasando a la etapa de pupa y al estado adulto, circulando y replicándose en el cuerpo del trips, presentando un tipo de circulación propagativa (100), pero no es transmitido a la progenie. La mayoría de los trips comienzan a transmitir los virus al final del segundo estadio larval con tasas de 52,8 % para TSWV y 80 % para INSV (107). En el intestino medio de insectos adultos alimentados en plantas infectadas no pudieron detectarse partículas virales; aparentemente ocurre una alteración a nivel de las células epiteliales durante la maduración del insecto que impide el pasaje del virus a la hemolinfa y glándulas salivales, por lo tanto los adultos no pueden ser vectores, salvo que adquieran el virus al estadio larval (76, 100).

Para que se cumpla el ciclo de infección por lo menos algunas plantas infectadas con *Tospovirus* deben ser hospederos adecuados

para el desarrollo de los huevos y larvas de los vectores (44, 76). Las larvas no son aladas y no se dispersan con el viento; al transformarse en adultos alados virulíferos pueden trasladarse y comienzan a cumplir su rol epidemiológico como vectores de *Tospovirus*.

El inicio del ciclo ocurre cuando las hembras adultas ovipositan en hojas de plantas infectadas con *Tospovirus* que sean hospederos adecuados para el desarrollo de los huevos y las larvas de los vectores. Los trips pueden tener preferencia por plantas infectadas en relación a las plantas sanas. Yudin *et al.* (108) mencionan que hay mayor número de trips *F. occidentalis* sobre lechugas enfermas que sobre las sanas. Bautista (1) también demostró que los adultos de *F. occidentalis* presentan una preferencia por las plantas infectadas con TSWV, tanto para alimentarse como para ovipositar, hecho que se repite en varias especies. Esta preferencia puede ser debida a modificaciones fisiológicas causadas en la planta por la infección; Yudin *et al.* (108) opinan que puede ser por el color amarillento de la planta enferma.

La relación entre los trips y los *Tospovirus* es muy específica (32), sin embargo existen diferentes niveles de especificidad. Wijkamp (107) observó en 1993 que *F. occidentalis* fue la única especie capaz de transmitir las cuatro especies de *Tospovirus*: TSWV, GRSV, TCSV e INSV; con una eficacia mayor para INSV (84,5 %) y TSWV (66 %), siendo TCSV y GRSV transmitidos con menor eficiencia (en niveles de 27,6 y 10,2 % respectivamente). *F. intonsa* transmitió eficientemente TSWV (31,8 %), pero no ocurrió lo mismo para TCSV (0,7 %). De acuerdo al color del insecto, las formas oscuras de *F. schultzei* transmitieron TSWV (13,7 %), TCSV (37 %) y GRSV (15,7 %), mientras que las formas claras parecen ser menos eficientes transmitiendo TSWV (2,3 %), TCSV (5,9 %), y GRSV e INSV no fueron transmitidos. En trabajos recientes se demuestra que los machos

de *Frankliniella occidentalis* transmiten los Tospovirus mejor que las hembras (106).

En las áreas donde los cultivos no susceptibles vegetan durante el invierno, los virus sobreviven en las especies bianuales, en las perennes, o en el cuerpo de los trips adultos infectados (54, 76). Resulta también muy importante el papel de las malezas como reservorio tanto de los virus como del vector, ya que ambos poseen un amplísimo círculo de hospederos (37).

En cada área es importante determinar las especies de Tospovirus, los vectores, y las plantas hospederas, sean de cultivo, malezas, o autóctonas, para establecer la importancia relativa de cada uno de esos factores en la epidemiología de la enfermedad.

3. Hospedantes

Entre los virus de las plantas, los Tospovirus presentan el más amplio rango de huéspedes. Peters (74) ha actualizado la lista de plantas susceptibles a Tospovirus presentando más de 1.050 especies, de las cuales 926 son susceptibles a TSWV. Esta lista incluye monocotiledóneas y dicotiledóneas representando 92 familias. Hay 66 especies de monocotiledóneas pertenecientes a 5 familias. Entre las dicotiledóneas las familias más susceptibles son Asterácea y Solanácea.

Como permanentemente se están hallando huéspedes de nuevos Tospovirus, D. Peters (74) ha habilitado una página de Internet para que cada investigador pueda ingresar los resultados de sus investigaciones. El número de especies susceptibles en las familias que más nos conciernen figura en la Tabla 3.

4. Consideraciones sobre la epidemiología de la enfermedad en Argentina

En Argentina, la “peste negra del tomate” es una enfermedad endémica que a través de los años se ha instalado en gran número de hospedantes, muchos de ellos asintomáticos e integrantes de la flora autóctona, (40). Los Tospovirus identificados en el país como agentes causales de la enfermedad: GRSV, TCSV y TSWV tienen distribución geográfica preferencial (47), pero en su patogenia se comportan en forma similar sin presentar diferencias significativas en agresividad, sintomatología, hospedantes, y otras variables. En consecuencia no podemos atribuir por el momento un rol epidemiológico a las diferencias etiológicas entre los diferentes Tospovirus.

Por el contrario, los otros factores considerados, las fuentes de infección y los vectores, ambos condicionados por el medio ambiente, parecen determinantes de la eclosión de epifitias.

Cuadro 3. Número de especies susceptibles a Tospovirus en algunas familias botánicas

Familia	Nº especies	TSWV	INSV	GBNV	WSMV
Comositae = Asteraceae	233	213	21	5	0
Solanaceae	179	168	20	12	8
Leguminosae	53	36	3	20	3
Cruciferae	3	27	4	0	0
Labiatae	29	22	9	0	0
Araceae	24	21	6	0	0
Amaryllidaceae	21	21	2	0	0
Cucurbitaceae	19	15	1	2	9

Fuente: tomado de 74

Las fuentes de infección que actúan masivamente y revisten mayor importancia epidemiológica son los cultivos enfermos de tomate y lechuga, donde los vectores (*F.schultzei* y *F.occidentalis*) cumplen su ciclo completo y se multiplican. Es muy frecuente que estos cultivos sean abandonados, convirtiéndose en una fuente inagotable de insectos virulíferos que se trasladan llevando la infección a las nuevas plantaciones, plantas autóctonas y malezas. Entre éstas, las perennes o bianuales pueden ser focos primarios de infección en el nuevo ciclo vegetativo si además de albergar al virus son colonizadas por los vectores. De igual forma actúan los cultivos susceptibles como lechuga que se siembran en forma escalonada durante todo el año.

Los vectores están fuertemente influenciados por las condiciones ambientales. Si éstas son favorables, pueden pasar el invierno al estado de adulto sin interrumpir su actividad como dispersores de la “peste negra”. Bajas precipitaciones y elevadas temperaturas invernales favorecen la dinámica de sus poblaciones.

Cultivos de cebolla, que albergan grandes poblaciones de trips, no cuentan en la epidemiología de la enfermedad, porque *Thrips tabaci* no actúa como vector en nuestro medio.

La importancia de *Frankliniella occidentalis* como transmisor de *Tospovirus*, radica en que es muy resistente a condiciones climáticas adversas, tiene un rango de hospedantes mayor que los otros vectores, es de difícil control porque se refugia en el interior de flores, escamas y yemas, y genera fácilmente resistencia a insecticidas, y además posee una elevada tasa de multiplicación (1).

Control de las enfermedades causadas por *Tospovirus*

El control de *Tospovirus* presenta

dificultades que se ven magnificadas por su amplio rango de hospedantes. Las prácticas más importantes a tener en cuenta son preventivas: cultivar germoplasma tolerante, evitar las fuentes de infección, y disminuir la afluencia de vectores

1. Lucha química contra el virus

Se ha empleado mucho tiempo en la tentativa de hallar compuestos químicos que directamente eliminen o restrinjan la multiplicación de los virus en las plantas. En 1987, De Fazio *et al.* (30) estudiaron el efecto de dos sustancias antivirales: ácido acetil salicílico y ácido poliacrílico. Estos compuestos fueron pulverizados sobre plantas de tabaco a las que luego se inoculó con TSWV. Las dos sustancias inhibieron el desarrollo de lesiones locales y sólo el ácido acetil salicílico disminuyó el porcentaje de plantas infectadas sistémicamente. Ambas drogas sólo han sido eficaces en condiciones experimentales y cuando el intervalo de aplicación y la inoculación del virus fue de 48 horas.

2. Manejo de cultivo

En las áreas donde la enfermedad causa pérdidas significativas es necesario conocer cuáles son las fuentes de inóculo para proceder a eliminarlas. Las más importantes, sobre todo por su magnitud, son las plantaciones de lechuga y/o tomate abandonados, que deben ser levantadas y sus rastrojos eliminados. Por otra parte se recomienda mantener los cultivos libres de malezas mediante adecuadas labranzas y herbicidas, erradicando así potenciales fuentes de infección.

Remover las plantas que presentan síntomas dentro del cultivo es aconsejable cuando son pequeñas, especialmente en cultivos protegidos y los que se “ralea”, como lechuga. Eliminar plantas de lechuga con

síntomas de *Tospovirus* en el momento del primer y segundo raleo disminuye la incidencia de la enfermedad¹; aunque se coincide con Cho (18) en que ésta no desaparece.

Afortunadamente los *Tospovirus* no se transmiten por la semilla botánica, pero en el caso de especies de multiplicación agámica (papa y dalia) debe plantarse material sano y eliminar toda planta “guacha” proveniente de órganos de reproducción vegetativa. Igualmente, en lo que concierne a plantas espontáneas y malezas perennes o bianuales, si la epifitias es severa deben suspenderse los cultivos escalonados y superpuestos de especies susceptibles. La fecha de siembra también puede modificarse, para no exponer las plantas pequeñas (más susceptibles) a una gran afluencia de vectores.

3. Control de los vectores

Esta ha sido una de las principales estrategias de control de los *Tospovirus*, tanto mediante control biológico como químico, pero no se ha logrado por esta vía eliminar la “peste negra”, sino mitigar sus efectos en algunos casos.

3.1. Control biológico

El trips *Frankliniella occidentalis* es actualmente la plaga más importante en cultivos de invernadero en el área del Cinturón Verde Bonaerense, Argentina, no por el daño directo, sino como transmisor de *Tospovirus*. El control químico de los trips es difícil e ineficiente debido al comportamiento críptico de la plaga, que incluye la oviposición en los tejidos de la planta y el período de pupa enterrado en el suelo. Además presenta una altísima tasa reproductiva, baja sensibilidad a muchos insecticidas, y amplia resistencia a otros (86). Por lo tanto, una alternativa

importante y no contaminante de control de trips es la utilización de predadores; que ya se está aplicando con éxito en otros países. Esta técnica es útil sólo dentro de los invernaderos.

Los agentes más empleados para el control de trips son las especies: *Orius* sp., *Chrysoperla carnea* y *Amblyseius* sp.

Los antocóridos, y especialmente *Orius* sp., son eficientes para el biocontrol porque tienen una amplia eficiencia en la búsqueda de la presa, y pueden aumentar la población si la presa es abundante. Tavella *et al.* (99) encontraron en cultivos de pimiento en invernadero que *Orius laevigatus* era el enemigo natural más abundante y activo de los trips. En este estudio, ese antocórido fue el predador más eficiente de *Frankliniella occidentalis*. Para conseguir éxito en el control es importante elegir el momento para introducir al *Orius laevigatus*. Éste se ubica en las flores, se desarrolla y reproduce a 25 °C y está bien adaptado a altas temperaturas.

En Argentina se conocen como enemigos naturales de trips a *Orius incidiosus*, *Chrysoperla carnea* y *Neoseiulus californicus* = *Amblyseius chilensis*. *Amblyseius cucumeris* y *Amblyseius barkeri* figuran entre las especies más frecuentemente usadas en programas de control biológico, comercializados con éxito en Europa y Estados Unidos.

Funderburk *et al.* (43) han hallado una nueva especie de nemátode del género *Thripinema*, parasitando al trips del tabaco sobre maní. Como las otras cinco especies de *Thripinema*, la nueva especie *Thripinema nicklewoodii*, está exclusivamente parasitando trips (estas especies han pasado desapercibidas porque los trips son conservados en alcohol, y en ese medio los nemátodos se destruyen rápidamente). *T. nicklewoodii* fue el enemigo natural más común del trips de las flores *F. occidentalis* en cultivos florales y de producción de plantines en California. Este nemátode parasita los ovarios de las hembras de trips y reduce la oviposición.

¹ Nélida Granval de Millán. 1996. Observación personal.

3.2. Control Químico

Durante el período de huevo el trips está protegido por los tejidos de la planta, y durante los estadios de pupa y pseudopupa está protegido por el suelo. Por lo tanto en esas dos etapas los tratamientos químicos convencionales no pueden llegar a ellos (13). Una ayuda para determinar el momento más adecuado para los tratamientos químicos es el uso de trampas pegajosas que atraen exclusivamente adultos. *F. occidentalis* tiene clara preferencia por el color azul, mientras que *Thrips tabaci* prefiere el amarillo o blanco (13).

Son escasos los insecticidas con eficacia aceptable en el control de trips a campo, ya que las aplicaciones reiteradas de un producto generan resistencia. A ello se suma la gran cantidad de hospedantes, su alta movilidad, y su hábito de vivir dentro de las flores. Esto hace que el control químico sea complejo y poco efectivo (41).

De acuerdo a un ensayo de laboratorio realizado en el Alto Valle del Río Negro, Argentina (41), los mejores insecticidas en el control de *F. occidentalis* fueron los productos de contacto-ingestión listados en la Tabla 4; todos ellos provocaron una mortalidad del 100 % en 48 horas.

Para que estos insecticidas de probada eficacia actúen mejor se deben seguir algunas recomendaciones: no aumentar la dosis (para evitar problemas de resistencia y no eliminar enemigos naturales); hacer uso del monitoreo para atacar la plaga en el momento justo, antes de que aumente excesivamente la población;

aplicar los volúmenes necesarios y en las condiciones climáticas óptimas para asegurar un buen mojado y pulverizar, de ser posible, en horario nocturno para proteger a las abejas (41).

La eficacia del uso del metil clorpirifos ha sido comprobada por Deveza Maña (31) presentando una mortalidad de trips del 84 al 95 %, tanto al aire libre como en invernadero. Debido al ciclo biológico de la plaga, y la superposición entre las diferentes fases del mismo por el gran número de generaciones, los mejores resultados se obtienen mediante la aplicación de dos tipos de tratamientos: por vía foliar (400 mL por cada 100 L de agua cada dos semanas), y en el agua de riego (3 L.ha-1 para riego localizado, y 6 L.ha-1 para riego por surco o manto). Éste último tratamiento es recomendado por Deveza Maña (31) para el control de las pupas; se sabe que éstas no se alimentan, pero se convierten en adultos en muy poco tiempo.

Recientemente ha aparecido un insecticida natural, el Tracer (36), derivado de un proceso de fermentación. Su ingrediente activo es spinosard el cual provee una consistente efectividad sobre larvas de lepidopteros, trips, moscas y mosquitos. El producto combina el poder de volteo de los insecticidas sintéticos, y el perfil toxicológico y ecotoxicológico de los productos biológicos. A las pocas horas de ser aplicado provoca la parálisis del insecto, cesando de inmediato los daños en el cultivo. No afecta al medio ambiente, es inocuo para los mamíferos, peces, aves e insectos benéficos. El spinosard induce en los insectos que ataca, una excitación de las neuronas

Cuadro 4. Productos químicos probados para el control del trips de las flores, *Frankliniella occidentalis*

Nombre comercial	Principal activo	Clase	Dosis por HL
Lorsban	Clorpirifos	Órgano fosforado	150 g
Lannate	Metomil	Carbamato	60 g
Dicarzol	Formetanato	Carbamato	75 g + azúcar 1%
Tamaron	Metamidofos	Órgano fosforado	100 ml
Reldan	Metil clorpirifos	Órgano fosforado	150 ml

Fuente: tomado de 41.

motoras ligadas a los músculos de las patas. La hiperacción de las neuronas motoras promueve la excitación de los músculos de las patas, se produce un intenso movimiento de alas, temblores, postración. Esto provoca finalmente la fatiga neuromuscular con la siguiente parálisis.

Furderburk *et al.* (43) demostraron el control de *F. occidentalis* con spinosard, con excelente resultado. Lo más interesante fue que durante su uso se mantuvo la población de enemigos naturales de los trips, especialmente los del género *Orius*.

En general, el control de la enfermedad mediante el uso de insecticidas contra trips ha demostrado poco éxito; debe considerarse un arma más entre varias medidas de manejo.

3.3. Otros métodos

Se mencionan entre otros, el control del ingreso de los trips al cultivo mediante barreras fijas colocadas en el sector de los vientos predominantes; el uso de los *mulch* reflectivos UV (ultra violeta), que reducen la población temprana de *F. occidentalis*; las mallas ultrafinas para invernaderos; y el trapeo masivo en cultivos protegidos colocando bandas pegajosas atractivas (ya no con fines de muestreo, sino de captura).

Broadbek *et al.* (12) sugieren que las poblaciones de *F. occidentalis* son mayores sobre tomate cuando la concentración de nitrógeno en los tejidos foliares es mayor. Por lo tanto, el control de la fertilización nitrogenada es importante. Este autor concluye que usando el *mulch* reflectivo UV, y usando concentraciones justas de nitrógeno, se reduce la incidencia de trips y por ende de *Tospovirus*.

4. Control de *Tospovirus* a través de resistencia genética

Una de las medidas de control para *Tospovirus* más eficaces es la resistencia genética. Ella impide el desarrollo de

enfermedad; o posterga la manifestación de los síntomas, más allá de que haya huéspedes enfermos en las inmediaciones del cultivo y de la presencia de los vectores. Además disminuye las aplicaciones de insecticidas que son costosas y contaminantes.

El germoplasma resistente puede obtenerse por dos vías: fuentes de resistencia naturales y fuentes de resistencia artificiales, que es la obtención de plantas transgénicas.

4.1. Fuentes de resistencia naturales en tomate

Se han identificado resistencias en varias especies del género *Lycopersicon*: en *L. esculentum* Mill, en *L. peruvianum* (L) Mill, en *L. hirsutum* Hum.&Bompl., en *L. pimpinelifolium* (Just)Mill, y en *L. chilense* Dun (96).

En *Lycopersicon esculentum* se encontró resistencia a “peste negra del tomate” en los cultivares Rey de los Tempranos y Manzana (52). Esta resistencia es conferida por un gen recesivo.

En Argentina, Von der Pahlen (72) comprobó que Platense y Rey de los Tempanos fueron resistentes y postuló que la resistencia se debía a un gen parcialmente dominante y supone que el mecanismo de resistencia está dado por la inhibición de la multiplicación del virus.

El gen “platense” aporta tolerancia a campo a TSWV. El cultivar de tomate para mercado Uco Plata, obtenido en la Estación Experimental Agropecuaria La Consulta INTA, Mendoza, posee el mencionado gen y presenta un buen comportamiento a campo en los Cinturones Verdes de Buenos Aires y Mar del Plata.

Stevens (94), en Sudáfrica en 1964, obtuvo semilla de un cruzamiento entre *L. peruvianum* x *L. esculentum*. El embrión híbrido fue extraído del fruto inmaduro (ya que su desarrollo es imposible por incompatibilidad), se lo cultivó *in vitro* y se desarrollaron líneas

resistentes. Una de esas líneas, DE02, fue cruzada con UC 134 y se seleccionó por siete generaciones obteniéndose así la línea Stevens. En 1986, Van Zijl *et al.* (109) describieron que el cultivar Stevens se comporta como resistente a varios aislamientos de Tospovirus. En 1992, Stevens *et al.* (95), en EEUU, probaron que esa resistencia se debe a un gen simple dominante, y lo llamaron SW₅. Este gen tiene un gran poder de penetración (98,7 %); posee además un marcador genético muy cercano que se logra detectar con marcadores moleculares (95).

En Brasil (6), en 1993, corroboraron que SW₅ es resistente a TSWV, GRSV y TCSV; el mismo grupo de trabajo (7) mejoró la calidad de la líneas portadoras del gen SW₅ obteniendo TSW₁₀, resistente a los tres Tospovirus mencionados. En la actualidad las compañías semilleras ofrecen híbridos resistentes a Tospovirus en base al gen SW₅.

Stevens *et al.* (96) detectaron que la resistencia conferida por este gen tan prometedor es quebrada por aislamientos de TSWV de Hawai y Sudáfrica. También encontraron una fuente de resistencia a Tospovirus en 20 accesiones de *Lycopersicon chilense*, y recientemente hallaron una fuente de resistencia a Tospovirus en una retrocruza de un cruzamiento entre *Lycopersicon esculentum* x *Lycopersicon chilense* (LA 1938). Originalmente esta línea había sido seleccionada por su resistencia a *tomato mottle virus* (ToMoV). La línea fue designada Y118, y se halla en la etapa de pruebas de resistencia especialmente con los aislamientos que infectan plantas poseedoras del gen SW₅.

4.2. Fuentes de resistencia naturales en lechuga

Las únicas fuentes de resistencia citadas al presente son los cultivares Tinto y Ancora provenientes de Hawai (71). La resistencia parece ser parcialmente dominante. Estos cultivares están siendo probados con los tres

Tospovirus presentes en el país, no expresando hasta el presente la mencionada resistencia.²

4.3. Fuentes de resistencia naturales en pimiento

Alta resistencia a TSWV se encuentra en *Capsicum baccatum* var. *pendulum* y en dos líneas de *Capsicum chinense* (9). Inoculados con dos aislamientos brasileños de TSWV, ambas líneas de *Capsicum chinense* (CNPH 275 y PI 159.236) fueron inmunes a uno de los aislamientos. La resistencia de estas líneas se debe a un gen simple con penetración alta, llamado TSw; su resistencia es efectiva frente a TSWV, pero no a GRSV y TCSV (8, 10).

4.4. Fuentes de resistencia artificiales; obtención de plantas transgénicas

La obtención de plantas transgénicas resistentes es otra estrategia para el control de Tospovirus (76). Las primeras plantas transgénicas de tabaco con resistencia a Tospovirus fueron obtenidas por Gielen en 1991, y por MacKenzie y Ellis en 1992, ambos expresando el gen de la proteína N de TSWV; y fueron resistentes a los aislamientos homólogos. La resistencia se mantiene aún si el virus es inoculado por *F. occidentalis*. Esta resistencia es extremadamente específica; no actúa con otros Tospovirus cercanos como GRSV y TCSV. Se obtuvo el mismo resultado con plantas transgénicas de tomate.

Una estrategia muy interesante fue desarrollada por Prins *et al.* (77), en 1994. Construyeron un tabaco transgénico que expresa simultáneamente la resistencia a TSWV, GRSV y TCSV. El vector quimérico utilizado para la transformación contenía los tres genes para la proteína N de cada uno de los Tospovirus, con el promotor 35_s (del

² Gracia, O. y N. Granval de Millán. 1997. Análisis de líneas de lechuga resistentes a peste negra del tomate. E.E.A. Mendoza INTA. Informe Anual E.E.A. Mendoza, 1997.

cauliflower mosaic virus) y un terminador NOS. Las plantas obtenidas con esa construcción muestran un alto nivel de resistencia a los tres Tospovirus. Los análisis de ADN de esas líneas transgénicas indican que la resistencia múltiple esta confinada a un *locus*, hecho que propicia el uso de estas plantas en programas de genética tradicional.

Posteriormente (78) se demostró que la resistencia transgénica a Tospovirus está limitada a plantas que expresen los ARN_s mensajeros de la proteína (N) de la nucleocapside y de la proteína de movimiento (Ns_m). Se produjeron plantas transgénicas que expresaban gran número de secuencias de todo el genoma viral de TSWV. Los test de resistencia de las plantas transgénicas obtenidas revelaron que sólo las plantas que expresaban secuencias derivadas de los genes N o Ns_m (secuencias sentido ó antisentido) fueron inmunes a la infección viral. Las que expresaban otras secuencias del genoma no fueron capaces de resistir a la infección de Tospovirus, independientemente de que las secuencias hubieran sido derivadas de S, M ó L del ARN del genoma. Se demostró así que la protección transgénica contra los Tospovirus no puede ser inducida por secuencias aleatorias del genoma, pero sí por la expresión de los genes N y Ns_m que confieren inmunidad. Estos genes posiblemente interfieren en la transcripción o traducción de los mARN_s del virus sugiriendo un importante papel de las proteínas N y Ns_m en los estadios iniciales de infección (78).

La resistencia transgénica contra Tospovirus también fue lograda con el uso de RNA_s defectivos interferentes (81). En este caso la protección se caracteriza por un significativo retardo en la aparición de los síntomas y atenuación de los daños causados por la infección. El mecanismo involucrado en la protección actuaría sobre la replicación de los virus. Gonsalves *et al.* (45) han desarrollado plantas transgénicas con el gen N de la proteína de la nucleocapside de TSWV,

GRSV e INSV en tabaco, lechuga, tomate y crisantemo. En Brasil se desarrolla una variedad transgénica de lechuga con la incorporación del gen de la proteína de movimiento (NS_m) de TSWV. ³

En el Instituto de Fitopatología y Fisiología Vegetal del INTA, Argentina, se ha obtenido una planta transgénica de tomate con la incorporación del gen de la nucleocápside N de GRSV; en este momento las plantas están en proceso de rusticación. ⁴

De acuerdo a las investigaciones actuales y con los resultados obtenidos en el campo (76, 78), la producción de plantas transgénicas con resistencia a varias especies de Tospovirus constituye una alternativa para el control de esta enfermedad.

Bibliografía

1. BAUTISTA, R.C.; MAU, R.F.L.; CHO, J.J. & D.M. CUSTER. 1995. Potencial of TSWV Tospovirus plant hosts in Hawaii as virus reservoir for transmission by *Frankliniella occidentalis*. *Phytopathology* 85:953-958.
2. BAUTISTA, R.C.; MAU, R.F.L.; CHO, J.J. & D.M. CUSTER. 1996. Thrips, tospovirus and host plant association in the Hawaiian farm ecosystem: Prospect for reducing disease losses. *Acta Horticulturae* 431:477-482.
3. BEATY, B.J. & C.H. CALISHER. 1991. *Bunyaviridae*. Natural history. *Current Topics in Immunology* 169:27-78.
4. BEST, R.J. 1968. Tomato Spotted Wilt Virus. *Adv. Virus Res.* 13:65-146 p.
5. BEST, R.J. & H.P.C. GALLUS. 1953. Strains of tomato spotted wilt virus. *Aust. J. Biol. Sci.* 15:212-214.
6. BOITEUX, L.S. & L. de B. GIORDANO. 1993. Genetic bases of resistance against two tospoviruses species of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Euphytica* 71:151-154.
7. BOITEUX, L.S.; GIORDANO, L. DE B.; DE ÁVILA, A.C. & J.M.R. SANTOS. 1993. TSW10: Linhagem de tomate para mesa resistente a três espécies de tospovirus causadoras do "Vira-cabeça". *Hort. Bras.*: 11 (2): 163-164.
8. BOITEUX, L.S. & T. NAGATA. 1993. Susceptibility of *Capsicum chinense* PI 159236 to TSWV isolated in Brazil. *Plant Dis.* 77: 210 (abstr.)

9. BOITEUX, L.S.; NAGATA, T.; DUTRA, W.P. & M. FONSECA. 1993. Sources of resistance to TSWV in cultivated and wilt species of *Capsicum*. *Euphytica* 67:1-2.
10. BOITEUX, L.S. & A.C. de ÁVILA. 1994. Inheritance of a resistance specific tomato spotted wilt virus in *Capsicum chinense* PI 159236. *Euphytica* 75 (1/2):139-142.
11. BRITTLEBANK, C.C. 1919. Tomato diseases. *J.Agric.Victoria* 27: 231-235
12. BROADBECK, B.; FUNDERBURK, J.; STAVISKY, J.; ANDERSON, P. & S. OLSON. 1998. Cultural tactics for management of western flower thrips and tospoviruses. *Acta Horticulturae* 431: 68-70.
13. CARRIZO, P. 1996. Aspectos bioecológicos de *Frankliniella occidentalis*, el trips de las flores. In: Seminario Taller Problemática de la peste negra del tomate TSWV y trips de las flores *Frankliniella occidentalis* en la horticultura de la región. La Plata. 4p.
14. CHATZIVASSILIOU, E.; LIVIERATOS, J.; AVGELIS, N.; KATIS, N. & D. LYKOURESSIS. 1996. Occurrence of tospovirus in Greece. *Acta Horticulturae* 431:44-51
15. CHEN, C.C. & R.J. CHIU. 1996. A tospovirus infecting peanut in Taiwan. 1996. *Acta Horticulturae* 431:57-67.
16. CHILDERS, C.C. & D.S. ASCHOR. 1991. Feeding and oviposition injury to flowers buds of "novel" orange by *Frankliniella bisponosa* in Florida. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 84:272-282.
17. CHO, J.; MICHELL, W.C.; MAU, R.F.L. & W.C. SAKIMURA. 1987. Epidemiology of tomato spotted wilt virus disease on crisphead lettuce in Hawaii. *Plant Disease* 71: 505 - 508
18. CHO, J.J.; MAU, R.F.L.; GERMAN, T.L.; HARTMANN, R.W.; YUDIN, L.S.; GONSALVES, D. & R. PROVIDENTI. 1989. A multidisciplinary approach to management of TSWV in Hawaii. *Plant Disease* 73:375-383
19. CLARK, M.F. & A.N. ADAMS. 1977. Characterization of the microplate method of enzyme linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34:475-483.
20. DAL BÓ, E. 1995. Tomato spotted wilt virus on chrysanthemum in Argentina. *Plant Disease* 79 (5): 538.
21. DAUGHTREY, M. 1995. Detection and identification of tospoviruses in greenhouses. *Acta Horticulturae* 431:90-98.
22. DAUGHTREY, M.; JONES, R.; MOYER, J.; DAUB, M. & J. BAKER. 1997. Tospovirus strike the greenhouse industry. *Plant Disease* 81 (11): 1220-1230.
23. DE ÁVILA, A.; POZZER, L.; BEZERRA, I.; KOMERLINK, R.; PRINS, M.; PETERS, D.; NAGATA, T.; KITAJIMA, E. & R. RESENDE. 1998. Diversity of tospoviruses in Brazil. In: *Recent Progress : Fourth International Symposium on Tospoviruses and Thrips Floral and Vegetable Crops*. Wageningen, The Netherlands; p. 32-34.
24. DE AVILA, A. 1992. Diversity of tospoviruses. Ph.D. Thesis. Wageningen. The Netherlands. Agricultural Wageningen University. 135 p.
25. DE BORBÓN, C.M. 1995. Estudio de las poblaciones de trips en el cultivo de tomate en la provincia de Mendoza. In: *III Congreso Argentino de Entomología*, Mendoza; p. 109.
27. DE BORBÓN, C.M.; GRACIA, O. Y J.M. FELDMAN. 1995. Estudio de los vectores de virus de la peste negra del tomate (TSWV) en Argentina. In: *III Congreso Argentino de Entomología*, Mendoza; p. 110.
27. DE BORBÓN, C.M.; GRACIA, O. Y N. GRANVAL DE MILLÁN. 1995. Peste negra del tomate. Graves daños en plantaciones de lechuga. *Diario Los Andes. Sección 2, Campo y Tecnología*. 9 de julio de 1995; p. 12.
28. DE SANTIS, L. 1995. La Presencia en la República Argentina del trips californiano de las flores. *Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria. Comunicación Académica de número 49(14):18 p.*
29. DE SANTIS, L.; GALLEGU DE SUREDA, A. Y E.Z. MERLO. Estudio de los Tisanopteros Argentinos. *Obra del Centenario del Museo de La Plata* 6: 91-166.
30. DEFAZIO, G.; KUDMATSU, M. & M. VICENTE. 1987. Efeito antiviral do acido acetilsalisilico e do acido poliacrílico sobre o virus do viraçabeza do tomateiro em plantas do fumo. *Fitopat. Bras.* 12: 53-57.
31. DEVEZA MAÑA, M. 1990. Metil clorpirifos (RELDAN): Una solución para el control de *Frankliniella occidentalis* Pergande. In: *4º Simposio Nacional de Agroquímicos*. Sevilla, España p. 368 - 400.
32. DEWEY, R.A. 1995. Caracterización molecular e inferencias evolutivas de aislamientos Argentinos de Tospovirus. Tesis Ph. D. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Exactas. La Plata.
33. DEWEY, R. A.; SEMORILE, L.C. Y O. GRAU. 1996. Molecular diversity of tospovirus from Argentina. *Acta Horticulturae* 431:261.
34. DOUGHTREY, M. 1996. Detection and Identification of Tospoviruses in U.S. Greenhouses. *Acta Horticulturae* 431: 90.

35. DOUGHTREY, M.; JONES, R.; MOYER, J.; DAB, M. & J. BAKER. 1997. Tospoviruses strike the greenhouse industry. *Plant Disease* 81 (11): 1220 – 1230.
36. DOW AGRO SCIENCES. 1997. Tracer (Spinosard). Manual Técnico. 12 p.
37. DUFFUS, J. E. 1971. Role of weeds in the incidence of virus diseases. *Ann.Rev. Phytopathology* 9:319–340.
38. FAWCETT, G.L. 1938. La corcova del tabaco y su presencia en plantaciones de tomate. *Estac.Expt.Agr.Tucumán, Argentina. Circular N° 60*
39. FAWCETT, G.L. 1940. La peste negra de los tomates y la corcova del tabaco. *Revista de Industrias Agrícolas de Tucumán*. 30:221-226.
40. FELDMAN, J.M., GARCÍA LAMPASONA, S.C.; IGLESIAS, V.A. Y O. GRACIA. 1990. Nuevos hospedantes del virus de la peste negra del tomate en Argentina. *RIA* 1:140-146.
41. FERNANDEZ, D.; CICHÓN, L. Y E. RIAL. 1995. Trips de las flores. INTA. Centro Regional Patagonia Norte. E.E.A. Alto Valle INTA. 11 p.
42. FRANCKI, R.I.B.; FANQUET, C.M.; KNUDSON, D.L. & F. BROWN. 1991. Classification and nomenclature of viruses. *Arch.Virol.* 2: 1 450 (Suppl.)
43. FUNDERBURK, J.; STAVISKY, J.; TIPPING, C. & S. OLSON. 1998. Reevaluating the role of natural enemies and regulation of thrips populations. *Acta Horticulturae* 431:71-74.
44. GERMAN, T.L.; ULLMAN, D.E. & J.W. MOYER. 1992. Tospoviruses: diagnosis, molecular biology, phylogeny and vector relationship. *Ann. Rev. Phytopathol.* 30: 315–348.
45. GONSALVES, D.; PANG, S.; GONSALVES, C.; XUE, B.; YEPEG, M. & F.J. JAN. 1996. Developing transgenic crops that are resistance to tospoviruses. *Acta Horticulturae* 431:427-431.
46. GRACIA, O.; DE BORBÓN, C.M.; DAL BÓ, E.; CUESTA, G. Y N. GRANVAL DE MILLÁN. 1996. Presencia y distribución de diferentes tospovirus en Argentina. *In: Seminario Taller; Problemática de la peste negra del tomate TSWV y trips de las flores (Frankliniella occidentalis) en la Horticultura de la región. La Plata.* 3 p.
47. GRACIA, O.; DE BORBÓN, C.M.; GRANVAL DE MILLÁN, N. & G. CUESTA. 1999. Occurrence of different tospoviruses in vegetable crops in Argentina. *Journal of Phytopathology* 147 (4):223-227.
48. GRACIA, O. & J.M. FELDMAN. 1978. Natural infection of artichoke by tomato spotted wilt virus. *Plant Disease Reporter* 62 (12): 1076-1077.
49. GRANVAL DE MILLÁN, N. Y S. LANATI. 1996. Presencia del trips de las flores *Frankliniella occidentalis* en el Valle de Uco, Mendoza. *Informe de Progresos 1997, E.E.A. La Consulta INTA;* p.96.
50. HEINZE, C.; Adams, E. & Casper, R. 1995. The complete nucleotide sequence of the S RNA of a new tospovirus species representing serogroup IV. *Phytopathology* 85: 683-690.
51. HOBBS, H.A.; BLACK, L.L.; JOHNSON, R.R. & R.N. STORY. 1996. Weed host and thrips transmission of TSWV in Louisiana. *Acta Horticulturae* 431:291.
52. HOLMES, F.O. 1948. Resistance to Tomato Spotted Wilt Virus in tomato. *Phytopathology* 38: 467 – 473.
53. IE, T.S. 1970. TSWV Description on Plant Viruses. *Commonw. Mycol. Inst./Assoc. Appl. Biol.*39.
54. JENSER, G.; GÁBORJÁNYI, R. & R. VASDINNYEI. 1995. Tospovirus infections in Hungary. *Acta Horticulturae* 431: 51-57.
55. JORDÁ, C. 1993. Impacto viral en la costa mediterránea occidental. *Agrícola Vergel.* Julio. p. 367–371.
56. KHURANA, S.M.; SINGH, R.B.; NAIDU, R.A. & M. KRISHNAREDDY. 1998. Potato Stem Necrosis Virus. *In: Recent Progress : Fourth International Symposium on Tospoviruses and Thrips in Floral and Vegetable Crops.* Wageningen, The Netherlands; p. 44-45.
57. KITAJIMA, E.; DE ÁVILA, A.C.; RESENDE, R. DE O.; GOLDBACH, R. & D. PETERS. 1992. Comparative cytological and immunogold labelling studies on different isolates of tomato spotted wilt virus. *J.Submicrosc.Cytol. Pathol.* 24:1-14.
58. KOMERLINK, R.; KITAJIMA, E.; DE HAAN, P.; ZUIDEMA, D.; PETERS, D. & R. GOLDBACH. 1991. The nonstructural protein (NS_S) encoded by the ambisense RNAa segment of TSWV is associated with fibrous structures in infected plant cells. *Virology* 73: 687 - 693.
59. KOMERLINK, R.; STORMS, M.; VAN LENT, J.; PETERS, D. & R. GOLDBACH. 1994. Expression and subcellular location of the NS_M protein of tomato spotted wilt virus (TSWV) a putative viral movement protein. *Virology* 200:56-65.
60. LANATI, S. 1997. Problemática entomológica del cultivo del tomate. *In: Curso Solanáceas de fruto. Maestría en Horticultura, Universidad Nacional de Cuyo.* p. 18–21.
61. LATHMAM, L. & R. JONES. 1996. Spread of TSWV to horticultural crops in a region of Australia with mediterranean climate. *In:*

- International Symposium on Tospoviruses and Thrips of Floral and Vegetable Crops. 1995. Abstract p. 29.
62. LOPEZ LAMBERTINI; RAMOS, L. Y D. DUCHASE. 1995. Detección del GRSV por generación de cDNA mediante inmunocaptura RT-PCR. *In: Congreso de Sociedad Argentina de Investigación Bioquímica*. Villa Giardino, Córdoba.
63. LOURO, D. 1996. Detection and identification of two tospoviruses in Portugal: TSWV and INSV. *Acta Horticulturae* 431:99-105.
64. MILNE, R.G. & R.I.B. FRANCKI. 1984. Should tomato spotted wilt virus be considered as a possible member of the family Bunyaviridae? *Intervirology* 22: 72-76.
65. MOUND, L.A. 1996. The Thysanoptera vector species of Tospoviruses. 1996. *Acta Horticulturae* 431: 298-309.
66. MUNFORD, R.A.; BARKER, I. & K.R. WOOD. 1994. The detection of tomato spotted wilt virus using the polymerase chain reaction. *J.Virol.Met.*46: 303-311.
67. MUNFORD, R.A.; BARKER, I. & K.R. WOOD. 1996. An improved method for the detection of Tospoviruses using the polymerase chain reaction. *J.Virol.Met.* 57:109-115.
68. NAGATA, T.; NAGATA, A.K.; GOLDBACH, R. & D. PETERS. 1998. Study of the primary infection of TSWV in thrips midgut using a novel immunostaining method. *In: Recent Progress: Fourth International Symposium on Tospoviruses an Thrips in Floral and Vegetable Crops*. Wageningen, The Netherlands; p.54-55.
69. NORRIS, D.O. 1946. The strain complex of and Symptom development of spotted wilt virus. *Bulletin of the Australian Council of Science and Industrial Research* N° 202.
70. OHNISHI, J.; HOSOKAWA, D.; FUJISAWA, I. & S. TSUDA. 1998. TSWV movement into salivary glands during pupation of the thrips vector, *Thrips setosus*, is associated with the transmissibility. *In: Recent Progress: Fourth International Symposium on Tospoviruses an Thrips in Floral and Vegetable Crops*. Wageningen, The Netherlands; p. 51-53.
71. O'MALLEY, P.J. & R.W. HARTMAN. 1989. Resistance to TSWV in lettuce. *HortScience* 24 (2):360-362.
72. PAHLEN, A. VON DER. 1970. Herencia de la resistencia del tomate (cv. Platense) a la peste negra (*Lycopersicon virus 3* Smith). *RIA* 8(3).
73. PALMER, J.M.; REDDY, D.V.R.; WIGHTMAN, J.A. & G.V. GANGO TAO. 1990. New information on the thrips vectors of TSWV in groundnut crops in India. *Int.Arachis Newsletter* 7:24-25.
74. PETERS, D. 1998. An updated list of plant species susceptible to tospoviruses and thrips. *In: Recent Progress: Fourth International Symposium on Tospoviruses an Thrips in Floral and Vegetable Crops*. Wageningen, The Netherlands; p. 109-111.
75. PITBLADO, R.E.; GARTON, R.; SHIPP, J.L. & D.W.A. HUNT. 1990. Introduction of TSWV and WFT complex into field vegetables in Ontario, Canadá. *Plant Disease* 74: 81.
76. POZZER, L.; RESENDE, R. DE O.; LIMA, M.; KITAJIMA, E.W.; GIORDANO, L.B. & A.C. DE ÁVILA. 1996. Tospovirus: uma visao atualizada. *R.A.P.P.* 4:95-148.
77. PRINS, M.; DE HAAN, P.; LUYTEN, R.; VAN VELLER, M.; VAN GRINSVEN, M.Q.J.M. & R. GOLDBACH. 1995. Broad resistance to tospoviruses in transgenic tobacco plants expressing three tospoviral nucleoprotein gene sequences. *Mol.Plant Microbe Interactions* 8: 85-91.
78. PRINS, M. 1997. Characterisation of Tospoviruses resistance in transgenic plants. Thesis. Department of Virology of the Wageningen Agricultural University. The Netherlands. 130 p.
79. PRINS, M. & R. GOLDBACH. 1998. The emerging problem of Tospovirus infection and non conventional method of control. *Trends in Micorbiology* 6(1):31-34.
80. RAMOS, M.L.; NOME, F. Y S. DUCHASE. 1996. Amplificación por RT-PCR y clonado de la región codificante de la proteína "N" del TSWV. *In: V Congreso Argentino de Virología y II Encuentro de Virólogos Latinoamericanos*. Tandil, Buenos Aires.
81. RESENDE, R. DE O.; DE HAAN, P.; VAN DE VOSSEN, E.; DE ÁVILA, A.C.; GOLDBACH, R. & D. PETERS. 1992. Defective interfering (DI) L-RNA segments of tomato spotted wilt virus (TSWV) retain both virus genome termini and have extensive internal deletions. *J. Gen. Virol.* 73: 2509- 2516.
82. RESENDE, R. DE O. 1993. Generation and characterization of mutants of tomato spotted wilt virus. Ph.D. Thesis. Wageningen Agricultural University, Wageningen, Netherlands.
83. RESENDE, R. DE O. 1995. Diversidade de Tospovirus no mundo. *Fitopat.Bras.* 20: 656-657.
84. RESENDE, R. DE O.; POZZER, L.; NAGATA, T.; BEZERRA, I.; LIMA, M.I.; GIORDANO, L. DE O. BRITTO; KITAJIMA, E.W. & A. DE ÁVILA. 1996. New Tospoviruses found in Brazil. *Acta Horticulturae* 431: 78-89.

85. RESENDE, R. DE O.; MARTINS, C.; SANTOS, M.; BEZERRA, I.; PRINS, M. & A.C. DE ÁVILA. 1998. Diversity of NS_M movement protein among Tospoviruses. *In: Recent Progress : Fourth International Symposium on Tospoviruses an Thrips in Floral and Vegetable Crops.* Wageningen, The Netherlands; p.38-40.
86. SAINI, E.; SALTO, C. Y E. BOTTO. 1996. Control biológico de trips. *In: Seminario Taller: Problemática de la peste negra del tomate (TSWV) y trips de las flores (Frankliniella occidentalis) en la horticultura de la región.* La plata. 2 p.
87. SAKIMURA, K. 1962. The present status of thrips-borne viruses. *In: Biological transmission of diseases agents.* Maramorosh, New York Academic. p. 33-44.
88. SAKIMURA, K. 1970. A comment on the color forms of *Frankliniella schultzei* (Tysanoptera: Thripidae) in relation of tomato spotted wilt. *Pacific Insect.* 11:761-762.
89. SAMUEL, G.; BALD, J.G. & H.A. PITTMAN. 1930. Investigations on "Spotted wilt" of tomatoes. *Australia.Common.Conc.Sci.Ind.Res.Bull.Nº 44.* 64 p.
90. SCHUSTER, G.L. & R.S. HALLIWEELL. 1994. Plant six new host of TSWV in texas. *Plant Dis.* 78:100.
91. SHERWOOD, J.L.; SANBORN, M.R.; KEISER, G.C. & L.D. MYERS. 1989. Use of monoclonal antibodies in detection of tomato spotted wilt. *Phytopathology* 79: 61-64.
92. SHYI-DONG, Y.; PENG YING-CHEH; CHAO CHIA HUNG & CHEN CHING CHUNG. 1998. Peanut Chlorotic Fan Spot Virus is serologically and phylogenetically distinct from other Tospovirus. *In: Recent Progress: Fourth International Symposium on Tospoviruses an Thrips in Floral and Vegetable Crops.* Wageningen, The Netherlands; p.42-43.
93. SINGH, S.J. & M. KRISHNAREDDY. 1996. Watermelon Bud Necrosis: a new Tospoviruses Disease. *Acta Horticulturae* 431:68-77.
94. STEVENS, J.M. 1964. Tomato breeding. Project Repport W - vl. Departament Agricultural Technical Service. Republic of South Africa.
95. STEVENS, M.R.; SCOTT, S.J. & R.C. GERGERICH. 1992. Inheritance of a gene for resistance to tomato spotted wilt virus TSWV form *Lycopersicon peruvianum* Mill. *Euphytica* 59:9-17.
96. STEVENS, M.R.; CANADY, M. & S.M. BARINEAU. 1998. What we know about Tospoviruses resistance in tomato *Lycopersicon esculentum* derived from the wild species *L. chilense*. *In: Recent Progress: Fourth International Symposium on Tospoviruses an Thrips in Floral and Vegetable Crops.* Wageningen, The Netherlands; p.19-20.
97. STEWART, J.W.; COLE, C. & P. SUMMUS. 1989. Winter survey of thrips (Thysanoptera: Thripidae) from certain suspected and confirmed host of TSWV in south Texas. *J. Entomol. Sci.* 24(3):392-401.
98. STORMS, M.; PRINS, M.; KIKKERT, M.; VANDER WETERING, F.; VAN DER SCHOOT, C.; KOMERLINK, R.; VAN LENT, J. & R. GOLDBACH. 1998. Analyses of NS_M as plant virus movement protein of tomato spotted wilt virus (TSWV). *In: Recent Progress : Fourth International Symposium on Tospoviruses an Thrips in Floral and Vegetable Crops.* Wageningen, The Netherlands; p.8.
99. TAVELLA, L. ALMA, A.; CONTI, A. & A. ARZONE. 1996. Evaluation of effectiveness of *Orius* spp. controlling *Frankliniella occidentalis*. *Acta Horticulturae* 431: 499-506.
100. ULLMAN, D. E.; GERMAN, T.L.; SHERWOOD, J. L.; WESCOTT, D. M. & F.A. CANTONE. 1993. Tospovirus replication in insect vectors cells: immunocitochemical evidence that the nonstructural protein encoded by S-RNA of Tospovirus is present in thrips vectors cells. *Phytopathology* 83: 856-863.
101. UN VIRUS devoró el 80 % de la cosecha de la zona. 1996. *Diario El Día, La Plata.* Informe especial; 17 de enero 1996, p 11.
102. VAIRA, A.M.; LISA V. & E. LUISONI. 1992. Diffusione di due ceppi di tomato spotted wilt virus in Liguria. *Informatore fitopatológico* 42 (2):59-63.
103. VERKLEIJ, F.N. & D. PETERS. 1983. Characterization of a defective forms of tomato spotted wilt virus. *J. Gen. Virol.* 64:677-686.
104. WEBB, S.; TSAI, J. & F. MITCHELL. 1998. Bionomics of *Frankliniella bispinosa* and its transmission of TSWV. *In: Recent Progress Fourth International Symposium on Tospoviruses an Thrips in Floral and Vegetable Crops.* Wageningen, The Netherlands; p. 67.
105. WETERING, F. VAN DE; HOEK, M. VAN DER; GOLDBACH, R. & D. PETERS. 1998. Distinct feeding behaviour between sexes of *Frankliniella occidentalis* results in higher Tospovirus transmission by males. *In: Recent Progress : Fourth International Symposium on Tospoviruses an Thrips in Floral and Vegetable Crops.* Wageningen, The Netherlands; p. 57-58.
106. WETERING, F. VAN DE; PETERS. D. & R. GOLDBACH. 1996. TSWV is transmitted by

- Frankliniella occidentalis* only after acquisition during the first larval stage. *Acta Horticulturae* 431: 350–358.
107. WIJKAMP, I.; LENT, J. VAN; KOMERLINK, R.; GOLDBACH, R. & D. PETERS. 1993. Multiplication of tomato spotted wilt virus in its insect vector, *Frankliniella occidentalis*. *J. Gen. Virol.* 74:342–349.
108. YUDIN, L.S.; TABASHNIK, B.E.; CHO, J.J. & W.C. MITCHELL. 1988. Colonization of weeds and lettuce by thrips (Tysanoptera: Thripidae). *Environ. Entomology* 17: 522-526.
109. ZILJ, VAN J.J.B.; BOSCH, S.E. & P.J. COETZEC. 1986. Breeding tomatoes for processing in South Africa. *Acta Horticulturae* 194:69–75.
110. ZIMMER, R.C.; MYERS, K.; HABER, S.; CAMPBELL, C.G. & G.H. GUBBELS. 1992. Tomato Spotted Wilt Virus a problem on grass peas and field pea in the greenhouse in 1990-1991. *Canadian Plant Disease Survey* 72:29-31.