

Capsicum chinense Jacq, nuevo hospedante de tomato chlorotic spot virus (TCSV) en Cuba

Capsicum chinense Jacq, new host of tomato chlorotic spot virus (TCSV) in Cuba



<https://cu-id.com/2247/v39e12>

¹Yarai Acosta Romay¹, ²Daimi Doval Delsa², ¹Ana Ibis Elizondo Silva¹,
¹Julia Elena Almádoz Parrado¹, ¹Elisa Javier Higginson^{1*}

¹Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV), Calle 110 # 514 entre 5ta B y 5ta F, Playa, La Habana, Cuba.

²Laboratorio Central de Cuarentena Vegetal (LCCV), Unidad Central de Laboratorios de Sanidad Agropecuaria (UCLSA).
Ayuntamiento # 231, entre San Pedro y Lombillo, Plaza de la Revolución, La Habana, Cuba

RESUMEN: El presente estudio tuvo como objetivo identificar el agente viral asociado a los síntomas similares a los causados por orthospovirus, que se presentaron en plantas de chile habanero picante (*Capsicum chinense* Jacq) de un área de cultivo protegido en el municipio Caimito, provincia Artemisa, Cuba. Con este propósito, en mayo de 2022, se recolectó un grupo de muestras sintomáticas en esta localidad y se analizaron mediante Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas tipo Sándwich de Doble Anticuerpo (DAS-ELISA) con anticuerpos específicos para tomato chlorotic spot virus (TCSV). Siete muestras con necrosis y anillos necróticos resultaron positivas al virus. La inoculación mecánica en plantas de *Nicotiana glutinosa* L. produjo lesiones locales necróticas, y en tomate (*Solanum lycopersicum* L.), necrosis sistémica. Las reacciones de RT-PCR, con cebadores específicos de la especie TCSV, produjeron un fragmento de talla aproximada de 948 pb que confirmó la infección por TCSV. Esta es la primera evidencia de la presencia del orthospovirus en el cultivo de *C. chinense* en Cuba. Se recolectaron varios especímenes de trips del follaje de plantas sintomáticas. Los insectos fueron identificados morfológicamente como *Thrips palmi* Karni y *Frankliniella cephalica* (Crawford), dos vectores reconocidos de orthospovirus, pero no de TCSV. En Cuba, esta especie viral y sus insectos vectores están ampliamente distribuidos en las zonas de producción de tomate y pimiento. Su presencia en el cultivo de ají picante chile habanero representa un alto riesgo para su producción y exportación y resalta la necesidad de una vigilancia continua del patosistema TCSV-vector-hospedante, para minimizar los daños potenciales a cultivos de importancia económica.

Palabras claves: chile habanero, cultivo protegido, ELISA, PCR, virus.

ABSTRACT: The present study aimed at identifying the viral agent associated with orthospovirus-like symptoms on hot chili habanero bell pepper (*Capsicum chinense* Jacq) plants growing in a protected cultivation system area in Caimito municipality, Artemisa province. For this purpose, a group of symptomatic samples were collected at this location in May 2022, and they were tested by Double Antibody Sandwich- Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (DAS-ELISA) with specific antibodies for tomato chlorotic spot virus (TCSV). Seven samples with necrosis and necrotic ringspots were positive for the virus. Mechanical inoculation on *Nicotiana glutinosa* L. and tomato (*Solanum lycopersicum* L.) produced local necrotic lesions and systemic necrosis, respectively. Reverse transcription-PCR with TCSV species-specific primers produced a fragment of approximately 948 bp size that confirmed TCSV infection. This is the first evidence of the presence of orthospovirus in *C. chinense* in Cuba. Several thrips specimens were collected from the foliage of symptomatic plants. The insects were morphologically identified as *Thrips palmi* Karni and *Frankliniella cephalica* (Crawford), two recognized vectors of orthospoviruses, but not of TCSV. In Cuba, this viral species and its insect vectors are widely distributed in tomato and pepper production areas. Its presence in the hot chili habanero bell pepper crop is a high risk for its production and export and accentuates the need for continuous surveillance of the TCSV-vector-host pathosystem to minimize potential damages to economically important crops.

Key words: chile habanero, cultivo protegido, ELISA, PCR, virus.

Los orthospovirus (género *Orthospovirus*, familia *Tospoviridae*) son patógenos de plantas ampliamente distribuidos a nivel mundial. Sus miembros son transmitidos por diversas especies de trips y tienen un amplio rango de hospedantes que incluye arvenses, plantas ornamentales y cultivos de interés económico (1). Existen 26 especies reconocidas de orthospovirus (2), entre las que se encuentra tomato chlorotic spot virus (TCSV), recientemente renombrada como *Orthospovirus tomatoflavi* (3), según la nueva nomenclatura binomial

de especies de virus. TCSV causó daños considerables en plantaciones comerciales de hortalizas del continente americano (4, 5, 6); se informó por primera vez en Cuba en 2016 (7) y constituye un factor limitante para la producción de cultivos a campo abierto y protegidos (8).

En Cuba, existe un aumento gradual de las plantaciones comerciales del ají picante denominado chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.), pues constituye rubro exportable. Recientemente, se observaron síntomas similares a los provocados

*Correspondencia a: Elisa Javier Higginson. E-mail: ejaver@inisav.cu

Recibido: 21/06/2024

Aceptado: 17/07/2024

por orthotospovirus en zonas de producción, pero no existen estudios previos sobre virus que afecten este cultivo en Cuba.

El objetivo del presente trabajo fue determinar, mediante técnicas biológicas, serológicas y moleculares, el agente causal de estos síntomas observados en una localidad de la provincia Artemisa y, de esta forma, contribuir a la actualización del estatus fitosanitario del cultivo en Cuba.

Para ello se realizaron prospecciones en un área de cultivo protegido de chile habanero de la Finca "La Vicenta", de la Unidad Empresarial de Base "Granja Urbana" en Caimito, provincia Artemisa (22° 56' 58" N, 82° 36' 07" O), Cuba, donde se recolectaron 14 muestras del cultivar 'Ajuma rojo' con síntomas de anillos necróticos en hojas, tallos, frutos y clorosis (Fig. 1). Otros síntomas consistieron en mosaico clorótico y bandas necróticas en frutos. Se recolectaron, además, especímenes adultos de trips, presentes en el follaje, y se enviaron al laboratorio de Entomología del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV) para su identificación morfológica, a través de las claves taxonómicas (9, 10).

Para confirmar la presencia de orthotospovirus, las muestras se analizaron a través de la técnica Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas tipo Sándwich de Doble Anticuerpo (DAS-ELISA), con el juego de reactivos Loewe®, Alemania, código 07503C/480, con anticuerpos específicos de TCSV y siguiendo las instrucciones del fabricante. Paralelamente, 1 g de tejido de hojas se maceró en 4 ml de tampón fosfato 0,01M, NaSO₃ 1 % y los extractos se inocularon en hojas de *Nicotiana glutinosa* L. y tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Las plantas se colocaron en condiciones controladas hasta el desarrollo de síntomas.

Para confirmar los resultados del ELISA, las muestras se analizaron a través de RT-PCR con el par de cebadores TCSV F1 (5'-AGTATTATGCATCTATAGATTAGCACAA3') y TCSV R1 (5' ACAATCATCACATTGCCAGGA3') específicos del gen completo de la proteína de la cápside de TCSV, según Baysal *et al.* (11).

El 50 % de las 14 muestras analizadas, resultaron positivas a TCSV en el ELISA, las cuales coincidieron con las que mostraban anillos necróticos al momento de la recolecta. En *N. glutinosa*, los extractos foliares inoculados produjeron lesiones locales necróticas a los 7 días posteriores de la inoculación (dpi) y en tomate, necrosis sistémica, observada a los 10 dpi. Este resultado coincide con lo informado por González *et al.* (12) y Maeso *et al.* (13) y corroboran la presencia de aislados del género *Orthotospovirus*.

En la reacción de RT-PCR, un fragmento de talla aproximada de 948 pb se amplificó en seis de las siete muestras de ají picante chile habanero que fueron positivas en los análisis serológicos (Fig. 2, carriles 1-6), correspondiente con el esperado para el par de cebadores utilizados; mientras que, una séptima muestra no pudo ser confirmada debido a la degradación de la preparación de ARN.

Los resultados mostraron que los síntomas relativos a necrosis y anillos necróticos en hojas, tallos y frutos de *C. chinense* están asociados a la infección por TCSV. Los otros síntomas observados de mosaico clorótico en hojas y bandas necróticas en frutos pudieron estar relacionados con otras especies virales del mismo o de otros géneros virales, que pudieran estar presentes en el cultivo y que necesitarán de ser igualmente caracterizados.



Figura 1. Síntomas observados en plantas de ají picante chile habanero, cultivar 'Ajuma rojo'. en áreas de la Granja urbana del municipio Caimito, Artemisa, Cuba. Anillos necróticos en hojas (A), frutos (B) y tallos (C). / Symptoms observed on plants of hot chili habanero bell pepper, cultivar 'Ajuma rojo'. Necrotic ringspots on leaves (A), fruits (B), and stems (C).

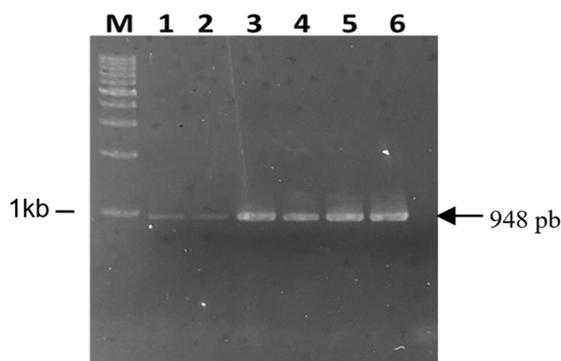


Figura 2. Electroforesis en gel de agarosa al 1 % del RT-PCR con cebadores específicos para TCSV de muestras de ají picante chile habanero (*C. chinense*). M1: marcador de peso molecular 1 kb, Promega; 1-6 muestras de ají picante chile habanero cv. 'Ajuma Rojo' positivas en ELISA para TCSV. / Electrophoresis on 1% agarose gel of the RT-PCR with TCSV species-specific primers of samples of hot chili habanero bell pepper (*C. chinense*). M1: 1kb molecular weight marker, Promega; 1-6: positive samples of hot chili habanero bell pepper cv. 'Ajuma Rojo' for TCSV in ELISA.

Esta constituye la primera evidencia de la presencia del virus en chile habanero en Cuba y una actualización de las enfermedades virales de este cultivo. A nivel mundial, aunque se informaron otros orthotospovirus que infectan naturalmente a *C. chinense* (14), solo existe un informe previo de esta hortaliza como hospedante TCSV, en la isla de Puerto Rico (15).

Asociadas a las plantas infectadas, se identificaron a las especies *Thrips palmi* Karni y *Frankliniella cephalica* (Crawford), las cuales son vectoras de orthotospovirus, aunque, hasta el momento, no se conoce su función en la transmisión de TCSV (16, 17).

El origen del brote de TCSV en el sitio estudiado pudiera estar relacionado con la transmisión efectuada por otra especie de trips vectora de TCSV no identificada en esta investigación, que haya adquirido la infección en malezas circundantes a la casa de cultivo y entrado, accidentalmente, al sistema protegido. La otra vía pudiera ser la importación y siembra de plántulas infectadas.

Se indicó y efectuó el saneamiento de la casa afectada y sus alrededores, para contener la enfermedad y evitar la diseminación.

En investigaciones futuras será necesario conocer si TCSV se encuentra en otras áreas de producción de chile habanero de Cuba, las especies de trips involucradas en la dispersión y su función en la epidemiología de la enfermedad.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Programa Sectorial de Salud Animal y Vegetal, por hacer posible esta investigación a través de los proyectos *Nuevas contribuciones a la mejora del manejo fitosanitario*

de los sistemas de casa de cultivo protegido y Biodiversidad y Epidemiología de enfermedades virales y bacterianas que afectan hortalizas y granos. Igualmente agradecen la colaboración del productor Alain Martin Santana de la UEB granja Urbana de Caimito por permitir el acceso y el trabajo en las áreas agrícolas de su finca. Al técnico medio Florencio Quesada Mesa por sus contribuciones en la colecta y procesamiento de muestras. A la Dra. C. Mayra G Rodríguez Hernández, Investigadora Titular del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) por sus valiosas recomendaciones en la revisión y edición del artículo.

REFERENCIAS

- Zhang Z, Zheng K, Zhao L, Su X, Zheng X, Wang T. Occurrence, distribution, evolutionary relationships, epidemiology, and management of Orthotospovirus in China. *Frontiers in Microbiology*. 2021 ; 12(1) : 194-205.
- ICTV_Master_Species_List_2023_MSL39.v3. International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV; [Internet]. (Consultado julio de 2024). Disponible en : <https://ictv.global/msl>.
- Zerbini FM, Siddell SG, Mushegian AR, Walker PJ, Lefkowitz EJ, et al. Correction to: Changes to virus taxonomy and the ICTV Statutes ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2023). *Archives of Virology*. 2023; 168: 175. <https://doi.org/10.1007/s00705-023-05797-4>.
- Batuman O, Rojas M. R. First Report of Tomato chlorotic spot virus in processing Tomatoes in the Dominican Republic. *Plant Disease*. 2014; 98(2). 286.
- Liu Q, Wang Q, Zhang S. Outbreaks of Tomato Chlorotic Spot Tospovirus in Commercial Tomato Fields and Effectiveness of Different Management Measures in South Florida. *Plant Health Progress*. 2020; 21(3), 188-193.
- Gorayeb ES, do Nascimento SC, dos Santos ANMR, Batalhon L, Albuquerque MRM, de Oliveira VGF, et al. Survey of viruses and vectors in tomato plants, alternative hosts and weeds in the state of Santa Catarina, Brazil. *Plant Pathology* 2024. 73, 444-454.
- Martinez-Zubiar Y, Chang Sidorchuk L, González Alvarez H, Barboza Vargas N, González Arias G. First molecular evidence of Tomato chlorotic spot virus infecting tomatoes in Cuba. *Plant Disease*. 2016; 100(9):1956.
- González-Álvarez H, Chang-Sidorshuk L, Martínez-Zubiar Y. Detección de Orthotospovirus en un área suburbana de producción de hortalizas. *Rev. Protección Veg.* 2022; 37: 1, E-ISSN: 2224-4697. Cu-ID: <https://cu-id.com/2247/v37n1e01>.

9. Mound LA, Kibby G. Thysanoptera an Identification Guide. Second Edition. CAB International, 1998. p.67.
10. González C, Surís M. Clave ilustrada de las familias, géneros y especies pertenecientes al suborden terebrantia, orden Thysanoptera presentes en Cuba. Boletín Fitosanitario. 2008; 13 (1):9-10.
11. Baysal-Gurel F, Li R, Ling KS, Miller SA. First Report of Tomato chlorotic spot virus infecting Tomatoes in Ohio. Plant Disease. 2015; 99(1)163-163.
12. González G, Echemendía GAL, Font DC, Quiala RI, Javer-Higginson E, Reyes G M I, *et al.* Información primaria de la presencia del género Tospovirus en Cuba. Fitosanidad. 2010; 14(4): 209-213.
13. Maeso D. La peste negra del tomate y morrón: Aportes experimentales para su manejo integrado. INIA. Montevideo, Uruguay. 2021. 183 p. <http://doi.org/10.35676/INIA/PNMT>
14. Devi OP, Sharma SK, Devi KS, *et al.* First report of natural infection of Capsicum chlorosis virus (Orthotospovirus capsiciflavi) in *Capsicum chinense* and *Capsicum frutescens* from jhum groves of North East India. Jour. Plant Pathology. 2024; 106: 281-282. <https://doi.org/10.1007/s42161-023-01524-9>
15. Estévez de Jensen C, Badillo VIE, Franz G, Mellinger HC, Turechek WW, Hutton SF, *et al.* First report of Tomato chlorotic spot virus in the non-solanaceous weeds erect spiderling (*Boerhavia erecta*), Asian spider flower (*Cleome viscosa*) and sweet chili pepper (*Capsicum chinense*) in Puerto Rico. Plant Health Progress. 2017; 18:17-18.
16. Riley DG, Shimat VJ, Rajagopalbabu S, Stanley D. Thrips vectors of Tospovirus. Journal of Integrated Pest Management. 2011; 1(2):1-10.
17. Khan RA, Seal DR, Zhang S, Liburd OE, Colee J. Integrated Effect of Plastic Mulches and Biorational Insecticides in Managing Tomato Chlorotic Spot Virus (TCSV) and Its Vector Thrips in Tomatoes. Insects. 2023. 3:14(9):740. <https://doi.org/10.3390/insects14090740> . PMID: 37754708; PMCID: PMC10531706.

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

Contribución de los autores: Yarai Acosta Romay: **Investigación, Metodología, Análisis formal, escritura del borrador original.** Daimi Doval Delsa: **Investigación, Metodología, Análisis formal.** Ana Ibis Elizondo Silva: **Investigación, Metodología, Análisis formal.** Julia Almándo Parrado: **Investigación.** Elisa Javer Higginson: **Conceptualización, Investigación, Análisis formal, Supervisión, Redacción: Revisión**

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