

Comportamiento alimentario de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) y la incidencia de TSWV (*Tomato Spotted Wild Virus*) en plantas de papa del cultivar Innovator

Recibido 01 de octubre de 2019 //
Aceptado 20 de diciembre de 2019 //
Publicado online 04 de agosto de 2021

De Borbón, C.M.¹; Ortego, J.¹; Estrada, M. De Los. Á.¹

RESUMEN

Los objetivos de este trabajo son: analizar el comportamiento de alimentación de las hembras de *Frankliniella occidentalis* confinadas individualmente en discos de hoja de papa de seis cultivares y comprobar y comparar la transmisión de TSWV por *F. occidentalis* a los cultivares de papa Spunta e Innovator con la finalidad de encontrar una posible causa que pueda explicar la mayor incidencia de TSWV en cultivos de papa del cultivar Innovator. La habilidad de transmitir TSWV fue evaluada en cultivares de papa Spunta e Innovator. Se realizaron pruebas de preferencia de alimentación por *Frankliniella occidentalis*. Se colocaron hembras adultas de *F. occidentalis* individualmente y se evaluó la alimentación en seis cultivares de papa. Se contó el número de gotitas fecales por disco de hojas. Los vectores se alimentaban significativamente menos en discos de hojas del cultivar Innovator que en otros cultivares. El porcentaje de discos de hojas de papa positivo para TSWV en Innovator fue superior al de Spunta. Las hembras transmitieron con la misma eficiencia que los machos en Innovator y menos eficientemente en Spunta. Es probable que se produzcan menos daños en las células de Innovator debido a una menor ingesta y probablemente mayor número de pruebas de hembras de *F. occidentalis*. Esto permitiría la supervivencia de una mayor cantidad de células infectadas con el virus. La mayor incidencia de TSWV puede explicarse porque distintos cultivares inducen a los vectores comportamientos diferentes entre otras posibles causas.

Palabras clave: *Orthotospovirus*, Thripidae, *Solanum tuberosum*, Trips de California, transmisores.

ABSTRACT

The objectives of this work are: To analyze the feeding behavior of *Frankliniella occidentalis* females individually confined in leaf disks of six potato cultivars and check and compare the transmission of TSWV by *F. occidentalis* to Spunta and Innovator potato cultivars with the purpose of finding a possible cause that can explain the higher incidence of TSWV in potato crops of the Innovator cultivar. The ability to transmit TSWV was evaluated in Spunta and Innovator potato cultivars. Feeding preference tests were conducted for *Frankliniella occidentalis*. Adult females of *F. occidentalis* were placed individually and feeding was evaluated in six potato cultivars. The number of fecal droplets per leaf disc was counted. Vectors were fed significantly less on leaf discs of the Innovator cultivar than on other cultivars. The percentage of discs of positive potato leaves for TSWV in Innovator was higher than Spunta. Females transmitted with the same efficiency as males in Innovator and less efficiently in Spunta. Less damage is likely to occur in Innovator cells due to less ingest and probably greater number of probes of females of *F. occidentalis*. This would allow the survival of a greater number of cells infected with the virus. The higher incidence of TSWV can be explained because different cultivars induce vectors different behaviors among other possible causes.

Keywords: *Orthotospovirus*, Thripidae, *Solanum tuberosum*, Western Flower Thrips, transmitters.

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Mendoza, San Martín 3853, (5507) Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina. Correo electrónico: deborbon.carlos@inta.gov.ar

INTRODUCCIÓN

La enfermedad denominada “Top necrosis de la papa” es causada, en Argentina, por tres especies de *Orthotospovirus*: *Groundnut ringspot virus* (GRSV), *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV) y *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) (Granval de Millán y Gracia, 1999).

Los *Tospovirus* son transmitidos de planta a planta por trips (Insecta: Thysanoptera). La interacción tospovirus-planta-vector es específica y la relación es compleja. Varios factores influyen en esta interacción que conducen a una alta variabilidad de la eficiencia de transmisión en una población de vectores (Ogata y Poehling, 2015).

El TSWV es adquirido por larvas de primer estadio y puede ser transmitido por larvas de segundo estadio y adultos después de un período de latencia (Wijkamp y Peters, 1993). Aunque en Argentina se registran más de 120 especies de trips (De Borbón, 2008), solo tres especies son vectores confirmados de TSWV y GRSV, *Frankliniella gemina* Bagnall, *Frankliniella schultzei* (Trybom) “trips del tomate” y *Frankliniella occidentalis* (Pergande) “trips de California” (De Borbón et al., 2006).

Tomato spotted wilt virus ha ocasionado pérdidas económicas en los cultivos de papa en el sureste de la provincia de Buenos Aires, desde 2006 (Salvalaggio et al., 2017). La epidemia alcanzó niveles elevados de incidencia en cultivos de papa “Innovator” en las temporadas 2008-09 (Carrizo et al., 2010). Aunque se comparó la dinámica poblacional de *F. occidentalis* y *T. tabaci* en dos cultivares de papa (Innovator y Shepody) (Vincini et al., 2014.), no se probó ninguna hipótesis que explicara la mayor incidencia de infección por TSWV en el cultivar Innovator.

Una posible hipótesis que explique la mayor incidencia de TSWV en cultivos de papa Innovator podría deberse a un comportamiento alimentario diferente de *Frankliniella occidentalis* en este cultivar. Tres tipos diferentes de pruebas de alimentación se han descrito para trips: (1) no ingestión, (2) ingestión corta y (3) ingestión prolongada (Stafford et al., 2011). Los trips salivan durante las pruebas sin ingestión. Estas son menos destructivas, dejando las células casi intactas, en comparación con las pruebas de ingestión corta y larga que vacían el contenido de una célula. Durante una ingestión prolongada, los trips se dedican a períodos prolongados de ingestión (puede durar más de 1 h) dañando múltiples células. Se ha propuesto que la transmisión del virus puede ocurrir durante pruebas de no ingestión introduciendo partículas virales a las células vivas (Rotenberg et al., 2015).

Por un lado, un buen indicador de alimentación podrían ser las gotas fecales. Cuando el trips pasa la mayor parte del tiempo probando sin ingestión produciría muy pocas gotas fecales en comparación con una ingesta prolongada. También la preferencia de alimentación por un determinado cultivar puede ser evaluada contando las gotas fecales. Por este método se probó en ensayos de laboratorio que *Frankliniella occidentalis* prefería al cultivar Spunta más que al Innovator para alimentarse. Además se comprobó en campo que hojas de plantas del cultivar Spunta eran más preferidas por *Thrips tabaci* y *Frankliniella occidentalis* que del cultivar Innovator (De Borbón et al., 2012).

Por otro lado, Van de Wetering et al. (1998) estudiaron el comportamiento de alimentación y la producción de cicatrices de *F. occidentalis*, machos y hembras, en relación con la transmisión de TSWV, a través de ensayos con discos de hojas de petunia. Mostraron que los machos de *F. occidentalis* eran transmisores más eficientes que las hembras debido a que in-

gieren poco o ningún contenido celular, es decir, las células no son dañadas de manera irreversible por lo que pueden soportar la infección viral, mientras que las hembras al alimentarse con mayor frecuencia e intensidad dañan muchas más células, por lo que el virus tendría menores posibilidades de sobrevivir en estas células lesionadas.

El comportamiento alimentario de las hembras de *F. occidentalis* en hojas de papa Innovator podría estar asociado con la mayor incidencia de la enfermedad en este cultivo. Considerando estos antecedentes, se plantea como hipótesis que las hembras de *F. occidentalis* se alimentan mucho menos de hojas de Innovator en comparación con otros cultivares. Por lo tanto, las células de las hojas se dañan menos, causando mayores posibilidades de infección por virus, y a su vez, aumentando la eficiencia de transmisión del TSWV.

Los objetivos de este trabajo son analizar el comportamiento de alimentación de las hembras de *F. occidentalis* confinadas individualmente en discos de hoja de papa de seis cultivares y comprobar y comparar la transmisión de TSWV por *F. occidentalis* a los cultivares de papa Spunta e Innovator.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fuente de TSWV y plantas test

Para obtener hojas sintomáticas positivas para TSWV se sembraron tubérculos del cultivar Innovator efectivamente infectados con TSWV, en macetas, confinadas en un invernáculo libre de insectos en la Estación Experimental Agropecuaria Mendoza INTA. Antes del ensayo se realizaron pruebas mediante la técnica DAS-ELISA, empleando reactivos monoclonales para TSWV de BIOREVA AG a hojas emergentes con el fin de confirmar la infección de esas plantas. Para los estudios de transmisión se utilizaron hojas sintomáticas de plantas con mayor título de TSWV. Las plantas de papa libres de virus utilizadas en los ensayos de comportamiento de alimentación y transmisión se obtuvieron a partir de minitubérculos de los seis cultivares de papa (Frital, Pampeana, Spunta, Innovator, Newen y Calen) plantados en macetas y mantenidos aislados en un invernadero en la Estación Experimental Agropecuaria Mendoza INTA.

Cría de *F. occidentalis*

La cría se inició a partir de adultos recolectados de flores de *Chrysanthemum* sp. de la huerta agroecológica de la Estación Experimental Agropecuaria Mendoza INTA. Algunas hembras fueron trasladadas a frascos plásticos de 1 L de capacidad, con orificios de ventilación de 2,5 cm en la tapa y en los lados opuestos, cerrados con tela tipo batista, que contenían vainas de poroto (*Phaseolus vulgaris* L.) como sustrato de oviposición y alimentación, además se colocó polen fresco de pino. Los frascos se colocaron dentro de organizadores de plástico transparentes a los que se les colocó un papel húmedo en el fondo y se los tapó apoyando la tapa y dejando una abertura para permitir la circulación de aire. Las larvas de 0-24 h de nacidas fueron utilizadas para los ensayos de transmisión.

Ensayos de transmisión de TSWV (Figura 1 A-C)

La capacidad de transmisión de *F. occidentalis* se probó con la técnica de discos de petunia modificada (Wijkamp y Peters, 1993). En este trabajo se usaron discos de hojas de papa y

un período de incubación de cinco días. Para los ensayos de transmisión, las larvas de *F. occidentalis* de 0-24 h de edad se colocaron sobre hojas de papa infectadas con TSWV, en placas de Petri de 90 mm de diámetro y se cubrieron con film transparente. Después de un período de acceso de adquisición de 48 h, las larvas se transfirieron a vainas de poroto frescas y limpias y se criaron hasta el estado de adulto. La capacidad de transmisión de TSWV se evaluó confinando 120 trips sobre discos de hojas de los cultivares Innovator y Spunta (60 por cada cultivar) colocados en forma individual en eppendorfs en un período de acceso de inoculación (PAI) de 48 h. Después de cada PAI, los discos de hoja de papa (14 mm de diámetro)

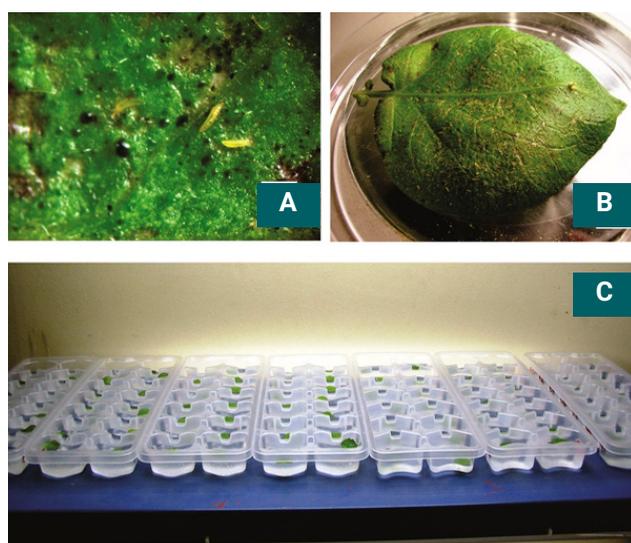


Figura 1. A: Detalle de larvas alimentándose sobre una hoja de papa "Innovator". B: Foliolo de hoja de papa del cv. Innovator infectado con TSWV con larvas de primer estadio de *F. occidentalis* en período de acceso a inoculación. C: Discos de hojas de papa "Innovator" y "Spunta" incubando el virus en cubeteras con agua destilada.

se incubaron en cubeteras con agua destilada (fig. 1C) durante cinco días y luego se analizaron por ELISA para TSWV, usando el reactivo monoclonal Bioreba AG. Los adultos recuperados del ensayo fueron transferidos individualmente a tubos identificados y con líquido conservante (alcohol al 10%, ácido acético al 5%, tritón al 0,1% en agua destilada) para ser determinado el sexo bajo lupa binocular.

Prueba de alimentación para *F. occidentalis* confinadas individualmente en discos de hojas

Adultos de *Frankliniella occidentalis* provenientes de la cría se inmovilizaron manteniéndolos unos minutos en frízer y separaron por sexo bajo lupa binocular. Las hembras se colocaron individualmente en tubos eppendorf con un disco de hoja (14 mm de diámetro) de cada cultivar (Innovator, Spunta, Pampeana, Newén, Frital y Calén), durante 48 h, hasta completar 20 repeticiones por cada uno. Para probar la intensidad de la alimentación se contó el número de gotas fecales de todos los discos.

La cría de los insectos y los ensayos de transmisión se desarrollaron bajo condiciones ambientales de laboratorio constantes a 25 ± 2 °C y 16 h luz/8 h oscuridad.

Los análisis estadísticos se realizaron con Infostat, versión 2008 (Di Rienzo *et al.*, 2013.).

RESULTADOS

El número de gotas fecales por discos de hojas fue una herramienta útil para evaluar el comportamiento de alimentación de los trips. La mediana del número de gotas fecales fue significativamente diferente según la prueba de Kruskal Wallis $H = 39.35$, $p < 0.0001$, comprobándose que *Frankliniella occidentalis* se alimenta menos en el cultivar Innovator que en otros cultivares (figura 2).

El porcentaje de discos positivos para TSWV transmitidos por *F. occidentalis* (hembras + machos) dependió del cultivar de papa según la prueba de Chi cuadrado MV-G2, $p = 0.0487$. Se encontró un mayor porcentaje de discos de hojas de papa

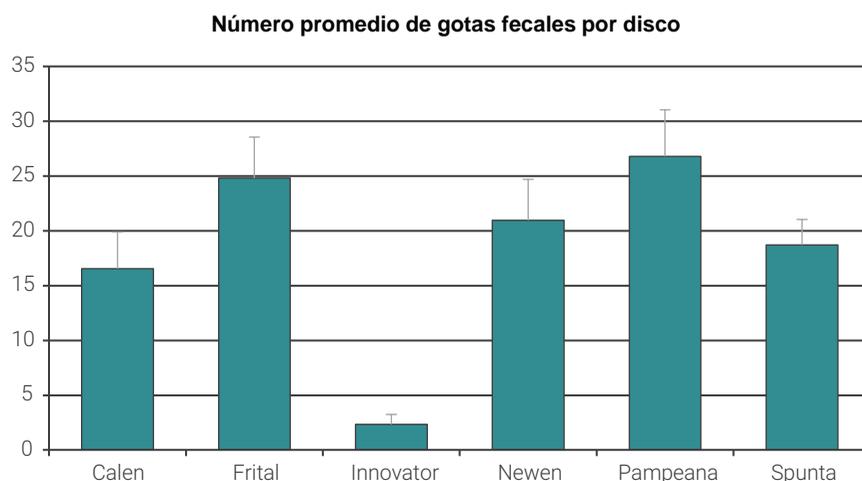


Figura 2. Número promedio de gotitas fecales de *Frankliniella occidentalis* confinados individualmente en 20 discos de hojas de papa por cultivar. El Error estándar es indicado con barra de error.

	Spunta	Innovator
Machos	24% (17)	33% (30)
Hembras	15% (40)	33% (30)
Total	18% (57)	33% (60)

Tabla 1. Porcentaje de adultos de *Frankliniella occidentalis* que transmitieron TSWV a discos de hojas de papa por sexo y cultivar (entre paréntesis se indica el número de trips).

Innovator infectados que en Spunta. Aunque no se observó dependencia del cultivar al discriminar por sexo, el porcentaje de discos positivos tanto para Spunta como para Innovator fue mayor para los machos que para las hembras, e igual en el cultivar Innovator (tabla 1).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Las especies *F. occidentalis* y *T. tabaci* están generalmente presentes en cultivos de papa infectadas con "top necrosis" en el sur de Buenos Aires (Carrizo *et al.*, 2010; Salvalaggio *et al.*, 2017), aunque solo se ha confirmado que la primera actúa como vector de esta virosis en Argentina (De Borbón *et al.*, 2006).

Entre las variedades de papa cultivadas en el país, la mayor incidencia de TSWV en cultivos de papa del cultivar Innovator en el sureste de Buenos Aires puede explicarse a través del comportamiento de alimentación de las hembras y machos de *F. occidentalis*. Las hembras se alimentan poco sobre hojas del cultivar Innovator. El comportamiento sería muy probablemente parecido al de los machos. A diferencia de lo que ocurre sobre discos de petunia donde las hembras se alimentan más que los machos y como resultado son menos eficientes para transmitir TSWV (Van de Wetering *et al.*, 1998).

Frankliniella occidentalis produce significativamente menos gotas fecales en los discos de hojas de cv. Innovator que en los otros cultivares (figura 2). Esto sugiere un comportamiento de alimentación distinto por el trips de California entre Innovator y los otros cultivares. Es probable que se produzca mucho menos daño en las células de Innovator debido al comportamiento diferente de alimentación de las hembras de *F. occidentalis*. Estas posiblemente realicen más pruebas y menores ingestas. Esto permitiría la supervivencia de una mayor cantidad de células infectadas, de modo que las hembras son más eficientes en la transmisión de TSWV en Innovator que en Spunta. Esto concordaría con lo propuesto por Rotenberg *et al.* (2015), donde expresa que TSWV sería transmitido en las pruebas y no en las ingestas cortas o largas, donde muchas células son dañadas.

Consideramos que la incidencia alta de TSWV en cultivos del cultivar Innovator se debe a múltiples causas; una de las más importantes es el comportamiento alimentario del trips de California. En este trabajo probamos que *Frankliniella occidentalis* al alimentarse menos transmite más eficientemente en discos de hojas de plantas jóvenes de cv. Innovator producidas en invernáculo. La hembra fue igualmente eficiente que el macho para transmitir TSWV en discos de hojas de papa del cultivar Innovator, a diferencia de lo que ocurrió para el cultivar Spunta donde el macho fue más eficiente que la hembra.

Conjeturamos que también al ser menos preferida hojas de este cultivar posiblemente el trips virulífero visite más plantas. Además las plantas infectadas con TSWV pueden ser más preferidas por los trips, transformándose en excelentes fuentes de infección como ha sido probado para otras especies vegetales (Abe *et al.*, 2012).

Finalmente dado que el virus puede permanecer en tubérculos infectados en el suelo, donde hubo alta incidencia de la enfermedad, la probabilidad de que queden tubérculos infectados es mayor y esto afectaría las futuras plantaciones de papa cultivadas en el mismo terreno y con el mismo cultivar.

Para seleccionar nuevos genotipos de papa, menos susceptibles al TSWV, se deben considerar las preferencias de alimentación de *F. occidentalis*.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Programa Nacional de Hortalizas del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y McCain Argentina. Además, agradecemos a Ana Escarrá (Diagnósticos Vegetales SRL) por la fuente del inóculo y a la Estación Experimental Agropecuaria Balcarce de INTA por la provisión de minitubérculos de papa. Se agradece a los árbitros y equipo editor de revista RIA por sus aportes para mejorar este manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

- ABE, H.; TOMITAKA, Y.; SHIMODA, T.; SEO, S.; SAKURAI, T.; KUGIMIYA, S.; TSUDA, S.; KOBAYASHI, M. 2012. Antagonistic plant defense system regulated by phytohormones assists interactions among vector insect, thrips and a tospovirus. *Plant Cell Physiology* 53, 204-212. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcr173>
- CARRIZO, P.; DAL BO, E.; ESCARRÁ, A.; PONCE, D.; CALDIZ, D. 2010. Manejo Integrado de Thrips y TSWV en papa. Del campo a la fábrica, 1-14. (Disponible: <https://es.scribd.com/document/33664596/Manejo-Integrado-de-Thrips-y-TSWV-en-papa-verificado-diciembre-de-2019>).
- DE BORBÓN, C.M.; GRACIA, O.; PICCOLO, R. 2006. Relationships between tospovirus incidence and thrips populations on tomato in Mendoza, Argentina. *Journal of Phytopathology*, 154: 93-99. doi/10.1111/j.1439-0434.2006.01066.x
- DE BORBÓN, C.M. 2008. Desertathrips chuquiraga gen. et sp.n. (Thysanoptera, Thripidae) from Argentina. *Zootaxa*. 1751: 25-34. (Disponible: <https://mapress.com/zootaxa/2008/f/zt01751p034.pdf> verificado: diciembre de 2019).
- DE BORBÓN, C.M.; ORTEGO, J.; ESTRADA, M. 2012. Preferencia alimentaria y reproductiva de dos especies de trips vectores de Tomato spotted wilt virus (TSWV) (tospovirus) entre las cultivares de papa "innovator" y "spunta". XXV Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa ALAP. Uberlândia. (Disponible: <http://www.abbabatatabrasileira.com.br/site/eventos/alap-enb-2012-xxv-congreso-de-la-asociacion-latinoamericana-de-la-papa-alap-xiv-encontro-nacional-de-producao-e-abastecimento-de-batata-enb-x-seminario-nacional-de-batata-semente-e-v-abba-batata/> verificado: 10 de julio de 2019).
- DI RIENZO, J.A.; CASANOVES F.; BALZARINI M.G.; GONZALEZ L.; TABLADA M.; ROBLEDÓ C.W. InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. (Disponible: <http://www.infostat.com.ar> verificado: diciembre de 2019).
- GRANVAL DE MILLÁN, N.; GRACIA, O. 1999. El género Tospovirus y su importancia en la horticultura. *Avances en Horticultura* 4 (1): 1-26.
- JENSER, G.; SZÉNÁSI, A. 2004. Review of the biology and vector capability of *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 39 (1-3): 137-155.
- OGADA, P.A.; POEHLING, H.M. 2015. Sex-specific influences of *Frankliniella occidentalis* (Western Flower Thrips) in the transmission of Tomato Spotted Wilt Virus (Tospovirus). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 122 (5/6), 264-274.
- ROTENBERG, D.; JACOBSON, A.L.; SCHNEWEIS, D.J.; WHITFIELD, A.E. 2015. Thrips transmission of tospoviruses. *Current Opinion in Virology*, 15: 80-89.

STAFFORD, C.A.; WALKER, G.P.; ULLMAN, D.E. 2011: Infection with a plant virus modifies vector feeding behavior. *PNAS*, 108 (23) 9350-9355; <https://doi.org/10.1073/pnas.1100773108>

SALVALAGGIO, E.; LÓPEZ LAMBERTINI, P.M.; CENDOYA, G.; HUARTE, M.A. 2017. Temporal and spatial dynamics of Tomato spotted wilt virus and its vector in a potato crop in Argentina. *Annals of Applied Biology* 171(1): 5-14. <https://doi.org/10.1111/aab.12357>

VINCINI, A.M.; JACOBSEN, B.; TULLI, M.C.; CARMONA, D.M.; LÓPEZ, R. 2014. Dinámica poblacional de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) y *Thrips tabaci* Lindeman en cultivos de papa (*Solanum tuberosum*). *Entomotropica* 29: 17-27.

WESTMORE, G.C.; POKE, F.S.; ALLEN, G.R.; WILSON, C.R. 2013. Genetic and host-associated differentiation within *Thrips tabaci* Lindeman (Thysan-

optera: Thripidae) and its links to Tomato spotted wilt virus-vector competence. *Heredity* 111: 210-215. <https://doi.org/10.1038/hdy.2013.39>

VAN DE WETERING, F.; HULSHOF, J.; POSTHUMA, K.; HARREWIJN, P.; GOLDBACH, R.; PETERS, D. 1998. Distinct feeding behavior between sexes of *Frankliniella occidentalis* results in higher scar production and lower tospovirus by females. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 88, 9-15. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.1998.00340.x>

WIJKAMP, I.; PETERS, D. 1993. Determination of the median latent period of two tospoviruses in *Frankliniella occidentalis*, using a novel leaf disk assay. *Phytopathology* 83, 986-991. (Disponible: https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1993Articles/Phyto83n09_986.PDF verificado: diciembre de 2019).