

Enfermedades virales en el cultivo de azafrán del Valle del Jiloca (Teruel)

F. Escriu¹, P. Zuriaga², M.A. Cambra³, M. Luis-Arteaga¹

1Unidad de Sanidad Vegetal; Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (CITA); Avda. Montañana 930; 50059 Zaragoza. (fescriu@aragon.es, mpluis@aragon.es)

2Servicio Provincial de Agricultura y Alimentación, Gob. de Aragón. C/ San Francisco 1; 44001 Teruel (pzuriaga@aragon.es)

3Centro de Protección Vegetal (CPV), Gob. de Aragón. Avda. Montañana 930; 50059 Zaragoza (mcambra@aragon.es)

1. Introducción

El azafrán (*Crocus sativus* L.) ha sido un cultivo importante en España desde la edad media, con un considerable impacto socio-económico durante el siglo XX en sus zonas de producción, principalmente las provincias de Albacete y Teruel, no sólo debido a su comercio sino también a su influencia en las economías familiares dedicadas a su cultivo [Rubio, 1997]. A pesar del progresivo descenso de la superficie y producción del cultivo de azafrán experimentado en España durante las últimas dos décadas [Anuario de Estadística, 2009], existe un creciente interés por parte de los productores por conservar su cultivo y ofrecer un producto de alta calidad. Es precisamente este impulso del sector productivo el que hace imprescindible abordar la evaluación de las condiciones sanitarias del material vegetal de azafrán disponible en el área donde se desarrolla el cultivo. Este trabajo presenta las actividades llevadas a cabo durante los años 2008 a 2010 para evaluar el estado sanitario del cultivo de azafrán del valle del Jiloca en cuanto a enfermedades de origen viral.

Son varios los virus descritos infectando especies del género *Crocus* de forma natural, que se han encontrado principalmente en Italia, Holanda, Lituania, China, Japón y Nueva Zelanda. El virus del mosaico del nabo (TuMV) y el virus del mosaico amarillo de la judía (BYMV) se han encontrado en plantas cultivadas o material vegetal de azafrán [Russo *et al.*, 1979; Kaneshige *et al.*, 1991; Chen, 2000; Ochoa-Corona *et al.*, 2007]. BYMV, el virus del mosaico del pepino (CMV), el virus del mosaico del narciso (NMV), los virus del mosaico suave y grave del lirio (IMMV, ISMV) el virus de la necrosis del tabaco (TNV), el virus del cascabeleo del tabaco (TRV) y el virus del mosaico del arabis se han encontrado en plantas o material de multiplicación de *Crocus* ornamentales [Bellardi y Pisi,

1987; Navalinskiene y Samuitiene, 2001; Miglino *et al.*, 2005; Samuitiene *et al.*, 2008]. De entre estos virus, TuMV, BYMV, CMV y TRV [Melgarejo *et al.*, 2010] y recientemente ArMV [Abelleira *et al.*, 2010] se encuentran presentes en España y podrían constituir un riesgo para los cultivos de azafrán. De hecho, observaciones realizadas en 1996 por algunos de los autores ya indicaron la presencia de virus del género *Potyvirus* sobre muestras de azafrán del valle del Jiloca.

2. Material y Métodos

2.1. Prospecciones en cultivos de azafrán y material vegetal de multiplicación

Durante las campañas de cultivo de 2007/08 a 2009/10 se realizaron prospecciones en dos parcelas de azafrán de secano, situadas en Blancas (paraje Cerro Gordo), y cuatro parcelas de regadío, situadas en Fuentes Claras, Monreal del Campo (Los Ojos) y Peracense, todas ellas en la provincia de Teruel. Las prospecciones se llevaron a cabo en primavera u otoño, según la campaña. Durante las prospecciones se prestó atención a la presencia de síntomas típicos de virosis, como mosaicos, clorosis o deformaciones en hojas, o estriados y deformaciones en flores tras su aparición en otoño. En cada parcela se tomaron muestras al azar siguiendo un itinerario preestablecido, y de aquellas plantas que presentaban algún tipo de síntoma o alteración, incluidas las especies arvenses. En algún caso se desenterraron plantas completas, de las que se tomaron muestras del bulbo. También se tomaron muestras de bulbos proporcionados por los agricultores de la zona, que habían sido descartados como material de multiplicación porque presentaban manchas, macas o calibre insuficiente. Todas las muestras se llevaron al laboratorio para su diagnóstico frente a virus.

2.2. Diagnóstico de virus en muestras de azafrán

Las muestras de hojas, flores o bulbos de azafrán se analizaron por serología mediante la técnica ELISA [Clark y Adams, 1977] con antisueros comerciales frente a CMV, TuMV y BYMV (DSMZ, Braunschweig, Alemania) y un suero para detección general de virus del género *Potyvirus* (Agdia, Elkhart, Indiana, Estados Unidos). A su vez, las muestras positivas se ensayaron por inoculación mecánica en una gama de 17 especies vegetales indicadoras pertenecientes a 7 familias distintas (Tabla 1), que se mantuvieron en un invernadero en condiciones de iluminación y temperatura controladas hasta la aparición de síntomas de virosis o al menos durante 30 días tras la inoculación.

3. Resultados

Durante las prospecciones realizadas en las campañas 2007/08 (primavera) y 2008/09 (otoño) en las parcelas de Blancas y Fuentes Claras no se observaron síntomas ni en hojas ni en flores de plantas de azafrán que pudieran ser atribuidos claramente a la presencia de virus. Sólo se observaron, en las parcelas de secano y durante las prospecciones de otoño, algunas plantas con hojas mostrando diferente grado de deformación en espiral o con amarillamiento de la mitad apical, probablemente ocasionados durante la emergencia de la parte aérea en un terreno excesivamente seco y duro. De todos modos, se tomó muestra de algunas de estas plantas para comprobar la posible infección por virus. Tampoco se observaron síntomas atribuibles a virosis en las prospecciones realizadas en primavera durante la campaña 2009/10, salvo en una parcela de secano situada en “Cerro Gordo”, en Blancas, donde se encontró una planta de la especie arvense *Eruca vesicaria* (L.) Cav. (familia *Brassicaceae*) que mostraba mosaico y deformación foliar.

Se consiguió reunir un total de 160 muestras foliares, 12 muestras de flores y 49 muestras de bulbos de azafrán, que se analizaron por serología para comprobar la presencia o ausencia de infecciones producidas por CMV, los potyvirus TuMV y BYMV o cualquier otro potyvirus. Únicamente una muestra foliar y otra muestra de bulbos de azafrán, ambas recogidas en la misma parcela de Los Ojos de Monreal del Campo durante la primavera de 2010, resultaron positivas al suero general de potyvirus y al suero específico de TuMV, miembro de este mismo género. Además, otras dos muestras de *Crocus* sp., procedentes de la colección de germoplasma obtenida por miembros de la Unidad de Tecnología de la Producción Vegetal del CITA y que se incluyeron inicialmente en el análisis como potenciales testigos sin infección, resultaron positivas frente al suero general de potyvirus. Una de estas muestras también resultó positiva frente al suero específico de BYMV.

Extractos de planta de todas las muestras que fueron positivas en los análisis serológicos y de la muestra procedente de *E. vesicaria* se inocularon sobre especies indicadoras para confirmar su infección por los virus identificados en las pruebas serológicas y descartar la presencia de otros virus transmisibles mecánicamente. Las reacciones observadas sobre plantas indicadoras a partir de la inoculación de las dos muestras procedentes de Los Ojos de Monreal y de la muestra de *E. vesicaria* confirmaron su infección por el potyvirus TuMV (Tabla 1 y Figura 1), incluyendo la aparición de mosaico sistémico en nabo (*Brassica rapa* L.), pero sin inducir síntomas sistémicos en rábano (*Raphanus sativus* L.). La infección

de *E. vesicaria* por TuMV se comprobó igualmente por serología a partir de tejido infectado de algunas de las plantas indicadoras inoculadas (*Chenopodium quinoa* Willd., *Nicotiana clevelandii* Gray, A., *N. megalosiphon* Heurck & Müll. y *N. benthamiana* Domin). Sin embargo, las reacciones en plantas indicadoras obtenidas a partir de las muestras positivas por serología para BYMV no permitieron confirmar de manera inequívoca la presencia de este virus. Sólo se observaron reacciones locales en judía (*Phaseolus vulgaris* L.), haba (*Vicia faba* L.) y guisante (*Pisum sativum* L.), pero no se observó infección sistémica en ninguna especie ni, hasta ahora, se ha conseguido recuperar el virus.

Tabla 1: Reacciones inducidas por el virus del mosaico del nabo (TuMV) en especies vegetales indicadoras a partir de inoculaciones de muestras infectadas de azafrán y *E. vesicaria* L.

Familia y especie indicadora	Reacción local	Reacción sistémica
<i>Amarantaceae</i>		
<i>Gomphrena globosa</i> L.	+	-
<i>Asteraceae</i>		
<i>Lactuca sativa</i> L.	-	-
<i>Brassicaceae</i>		
<i>Brassica rapa</i> L.	-	+
<i>Raphanus sativus</i> L.	-	-
<i>Chenopodiaceae</i>		
<i>Chenopodium amaranticolor</i> Coste & Reyn.	+	+
<i>C. quinoa</i> Willd.	+	+
<i>Cucurbitaceae</i>		
<i>Cucurbita pepo</i> L.	-	-
<i>Cucumis sativus</i> L.	-	-
<i>Fabaceae</i>		
<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.	-	-
<i>Solanaceae</i>		
<i>Capsicum annuum</i> L. "Doux del Landes"	-	-
<i>Datura stramonium</i> L.	-	-
<i>Nicotiana benthamiana</i> Domin	+	+
<i>N. clevelandii</i> Gray, A.	+	+
<i>N. megalosiphon</i> Heurck & Müll.	+	+
<i>N. tabacum</i> L. "Paraguay"	+	-
<i>N. tabacum</i> L. "Samsun"	+	-
<i>N. tabacum</i> L. "Xanthi nc"	+	-
<i>Physalis floridana</i> Rydb.	-	-
<i>Solanum melongena</i> L. "Cerna Krazavitza"	-	-
<i>S. melongena</i> L. "Violette de Barbentane"	-	-

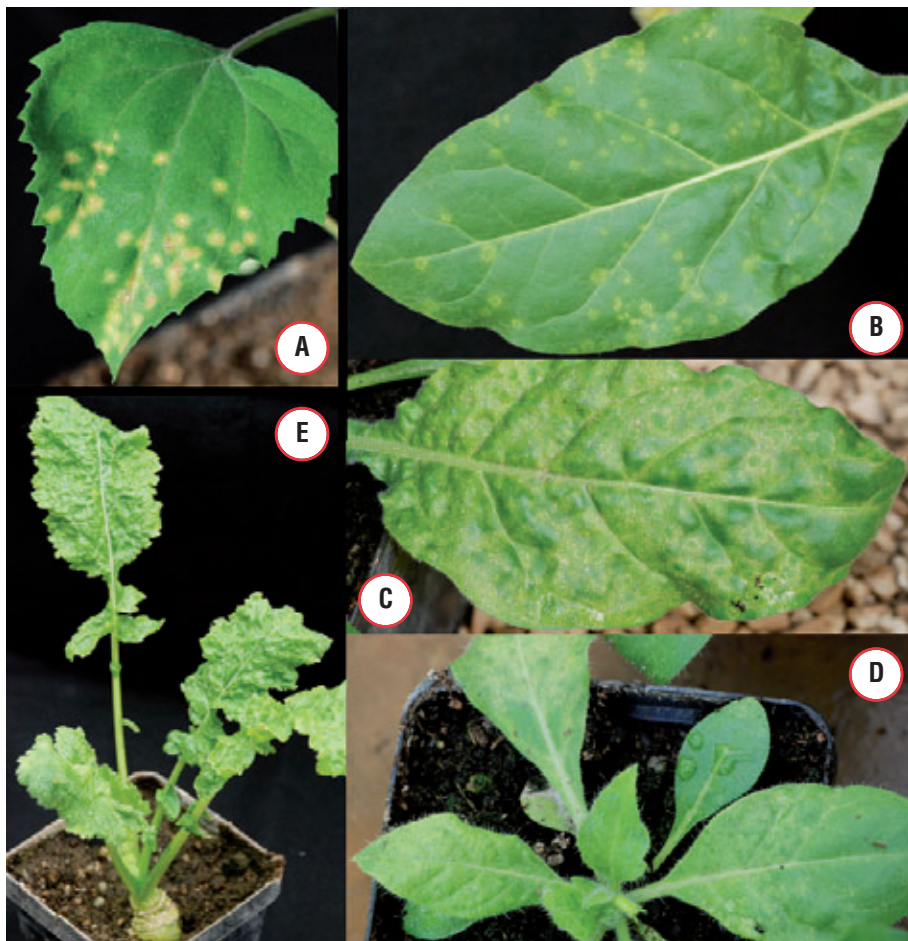


Figura 1. Reacciones inducidas por el virus del mosaico del tabaco (TuMV) en especies vegetales indicadoras a partir de inoculaciones de muestras infectadas de azafrán y *E. vesicaria* L.: Reacción local cloro-necrótica en *Chenopodium amaranticolor* (A), reacción local clorótica (B) e infección sistémica en forma de dibujos cloronecróticos (C) en *Nicotiana megalosiphon*, infección sistémica en *N. clevelandii* (D) y en nabo, *Brassica rapa* (E).

4. Conclusiones

Los resultados presentados en este trabajo indican que el estado sanitario del cultivo de azafrán en el Valle del Jiloca es bueno, en general, en lo referente a enfermedades producidas por virus, puesto que la gran

mayoría de muestras analizadas de la mayoría de las parcelas visitadas no han indicado presencia de virosis. Este buen estado sanitario puede deberse en gran medida a la todavía escasa superficie dedicada al azafrán en esta zona. Sin embargo, se ha confirmado la presencia puntual de al menos TuMV en dos parcelas, sobre azafrán en una de ellas y sobre una especie arvense en la otra, lo que indica la presencia de inóculo en la zona, que podría ocasionar mayor número de infecciones en el futuro. Será por tanto necesario extremar la vigilancia y las precauciones pertinentes en el manejo del cultivo para seguir manteniendo el buen estado sanitario en el futuro.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto PET 2007-14-C05-01 del INIA. Agradecemos a María del Mar López y María del Carmen Pasamar su excelente asistencia técnica en el laboratorio e invernadero. Asimismo, agradecemos a Fernando Arrieta, José Angel Alins y José María Royo sus cuidados sobre los ensayos en el invernadero.

5. Referencias bibliográficas

Abelleira A., Mansilla J.P., Padilla V., Hita I., Cabaleiro C., Bertolini E., Olmos A., Legorburu F.J. (2010). First Report of *Arabis mosaic virus* on Grapevine in Spain. *Plant Disease* 94, 635.

Anuario de Estadística (2009). Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Gobierno de España.

Bellardi M.G., Pisi A. (1987). Research on virus diseases of *Crocus* sp. in Italy. *Informatore Fitopatologico* 39, 33-39.

Chen J.S. (2000). Occurrence and control of mosaic disease (*Turnip mosaic virus*) in saffron (*Crocus sativus*). *Zhejiang Nongye Kexue* 3, 132-135.

Clark M.F., Adams A.N. (1977). Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virology* 34, 475-483.

Kaneshige H., Maeda T., Inouye N. (1991). Host range and properties of Bean yellow mosaic virus (BYMV) infecting *Crocus*, and serological relationships among three strains of BYMV. *Noyaku Kenkyu* 62, 225-240.

Melgarejo P., García-Jiménez J., Jordá M.C., López M.M., Andrés

M.F., Durán-Vila N., coords. (2010). Patógenos de plantas descritos en España. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Gobierno de España.

Migolino R., Jodlowska A., van Schadewijk A.R. (2005). First report of *Narcissus mosaic virus* infecting *Crocus* spp. cultivars in The Netherlands. *Plant Disease* 89, 342.

Navalinskiene M., Samuitiene M. (2001). Viruses affecting some bulb and corm flower crops. *Biologija* 4, 40-42.

Ochoa-Corona F.M., Lebas B.S.M., Elliott D.R., Tang J.Z., Alexander J.R. (2007). New host records and new host family range for *Turnip mosaic virus* in New Zealand. *Australasian Plant Disease Notes* 2, 127-130.

Rubio P. (1997). El azafrán y la comarca del Jiloca. Centro de Estudios del Jiloca, Diputación Provincial de Teruel.

Russo M., Martelli G.P., Cresti M., Ciampolini F. (1979). *Bean yellow mosaic virus* in saffron. *Phytopathologia Mediterranea* 18, 189-191.

Samuituene M., Navalinskiene M., Jackeviciene E. (2008). *Arabis mosaic virus* on ornamental plants. *Biologija* 54, 264-268.