

**CARACTERIZACION DEL AGENTE CAUSANTE DE UN DISTURBIO
EN FRIJOL PERENNE (*Phaseolus polyanthus* Greenman) EN NARIÑO Y
PUTUMAYO**

ROSA LILIANA OVIEDO BURBANO

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS
PROGRAMA DE INGENIERIA AGRONOMICA
SAN JUAN DE PASTO
2010**

**CARACTERIZACION DEL AGENTE CAUSANTE DE UN DISTURBIO
EN FRIJOL PERENNE (*Phaseolus polyanthus* Greenman) EN NARIÑO Y
PUTUMAYO**

ROSA LILIANA OVIEDO BURBANO

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
INGENIERO AGRONOMO**

**Presidente de tesis
CARLOS BETANCOURTH I.A.**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS
PROGRAMA DE INGENIERIA AGRONOMICA
SAN JUAN DE PASTO
2010**

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCION	8
1. METODOLOGIA.	9
1.1. TRANSMISION MECANICA	9
1.2. DETERMINACION DE ALGUNAS CARACTERISTICAS FISICAS.	11
1.2.1. Punto final de dilución.	12
1.2.2. Longevidad <i>in vitro</i> .	12
1.3. TRANSMISION POR INSECTOS.	12
1.4. TRANSMISION POR SEMILLA	13
1.5. MICROSCOPIA ELECTRONICA	14
2. RESULTADOS Y DISCUSION.	14
3. CONCLUSIONES.	22
BIBLIOGRAFIA.	23

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Síntomas presentados en fríjol (Ampollamientos)	6
Figura 2. Síntomas presentados en fríjol (Clorosis)	6
Figura 3. Distorcion de la lámina foliar presentada en frijol	6
Figura 4. Retardo en el crecimiento en plantas de fríjol	7
Figura 5. Síntomas registrados en haba (<i>Vicia faba</i> L) a partir de transmisión mecánica.	11
Figura 6. Forma áptera del áfido <i>Picturaphis vignaphilus</i> Blanchard.	16
Figura 7. Micrografía Electrónica tomada a la partícula de virus en frijol	17

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Transmisión mecánica de virus en 3 especies de plantas	15
Tabla 2. Punto Final de Dilución del virus en frijol.	16
Tabla 3. Longevidad <i>in Vitro</i> del virus en frijol.	17
Tabla 4. Transmisión del virus por el áfido (<i>Picturaphis vignaphilus</i> Blanchard), en grupos de 10 en dos especies de plantas con un período de adquisición de 40, 80 y 120 segundos, con un período de ayuno de 20 minutos.	18
Tabla 5. Transmisión por semilla en frijol (<i>Phaseolus polyanthus</i> Greenman)	20

**CARACTERIZACION DEL AGENTE CAUSANTE DE UN DISTURBIO
EN FRIJOL PERENNE (*Phaseolus polyanthus* Greenman) EN NARIÑO Y
PUTUMAYO¹**

**CHARACTERIZATION OF CAUSAL AGENT A DISTURBANCE IN
EVERGREEN BEAN (*Phaseolus polyanthus* Greenman) IN NARIÑO AND
PUTUMAYO**

Rosa Liliana Oviedo Burbano²
Carlos Betancourth García³
Germán Chávez J.⁴
Claudia Salazar G.⁵

RESUMEN

En los Departamentos de Nariño y Putumayo, desde el año 2003 se ha venido presentando un disturbio de aparente etiología viral atacando cultivos de frijol perenne (*Phaseolus polyanthus* Greenman) con síntomas de clorosis, distorsión de hojas, ampollamientos y retardo del crecimiento. La realización de este trabajo se hizo en el invernadero y el laboratorio de Entomología de la Universidad de Nariño, Pasto, Colombia, a 2.600 msnm, y una temperatura promedio de 20° C. Las pruebas de transmisión mecánica, por áfidos y semilla, permitieron establecer que la eficiencia de transmisión mecánica en frijol (*P. polyanthus*) fue del 93% con un punto final de dilución de 10⁻⁵, con un período de incubación de 10 días, por semilla se presentó con una eficiencia del 66% y con el áfido *Picturaphis vignaphilus* Blanchard con un periodo de adquisición de 2 minutos y 93% de eficiencia. En pruebas realizadas con otras especies de plantas se estableció que en frijol común (*Phaseolus vulgaris* L) se presentó transmisión mecánica del 83% y por áfido del 53%, en haba (*Vicia faba* L) únicamente se presentó transmisión

¹Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo

²Estudiante de Ingeniería Agronómica, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia. E-mail liliano781@yahoo.es

³Profesor Asociado Facultad de Ciencias Agrícolas, Departamento de Producción y Sanidad Vegetal. Universidad de Nariño, Pasto Colombia. E-mail cbet70@yahoo.com

⁴Profesor Asociado Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño, Pasto Colombia.

⁵Profesor Asociado Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño, Pasto Colombia.

mecánica del 33%. Exámenes de microscopía electrónica revelaron presencia de partículas de 700 x 15 nm, de forma flexuosa.

Palabras claves: Virus, transmisión, vector, leguminosa.

ABSTRACT

In the departments of Nariño and Putumayo, since 2003 has been presenting a disturbance of apparent viral etiology attacking perennial bean (*Phaseolus polyanthus* Greenman) with symptoms of generalized yellowing, distortion of leaves, shoots and rugose mosaic and growth retardation. The completion of this work was done in the greenhouse and the laboratory of entomology at the University of Nariño, Pasto, Colombia, 2,600m, and an average temperatura of 20°C. For the identification was made by collection of infected material for testing mechanical inoculation, aphid and seed transmission. Being able to establish that the efficiency of mechanical transmission in bean *Phaseolus polyanthus* Greenman is 90% with an end point dilution of 10^{-5} , its incubation period is 10 days, seed transmission was presented with an efficiency of 66% and the aphid vector was *Picturaphis vignaphilus* Blanchard with a period acquisition of 2 minutes and 93% efficiency of transmission. In tests with other species was established that in common bean (*Phaseolus vulgaris* L). is presented mechanical transmission of 83% and 53% by aphid in bean (*Vicia faba* L) was presented only 33% mechanical transmission, electron microscopy examinations revealed particles 700 x 15nm, shape flexuosa.

Keywords: Virus, transmission, vector. leguminosa

INTRODUCCION

En los corregimientos de Mapachico y Genoy del municipio de Pasto, departamento de Nariño, además del corregimiento de San Andrés y municipios de Santiago y Sibundoy, en el departamento del Putumayo existe gran variabilidad de frijoles silvestres de las especies *Phaseolus coccineus* L. y *Phaseolus polyanthus* Greenman, considerándose como un potencial importante para la alimentación humana dado la calidad nutricional de sus granos, su resistencia a antracnosis (*Colletotrichum sp*) y mancha anillada (*Ascochyta sp*), como la repelencia que tiene para la mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn) y gorgojos, hace de estos frijoles una posible base genética de importancia agronómica, para transferirla a los frijoles comunes (*Phaseolus vulgaris* L) (Sañudo, Checa y Arteaga, 2001)

Existen virus que atacan al frijol común, como son el virus del mosaico común (BCMV) y el virus del mosaico amarillo (BYMV), los cuales causan enfermedades que han ocasionado importantes pérdidas económicas, por tener una amplia distribución geográfica en especial el mosaico común, ya que éste se transmite por semilla, áfidos, mecánicamente y por polen, a diferencia del mosaico amarillo que se transmiten por áfidos y mecánicamente (Morales 1985).

Otros virus como el mosaico dorado y el virus del moteado clorótico han ocasionado pérdidas del 40%-60%, estos virus se transmiten por medio de la mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn) (López, 1985).

En observaciones de campo en el municipio de Sibundoy y corregimiento de Mapachico en plantas de frijol perenne (*Phaseolus polyanthus* Greenman) se viene presentando desde el año 2003 una enfermedad de aparente etiología viral; el disturbio que afecta a los frijoles silvestres, puede amenazar la variabilidad existente, ocasionada por infertilidades y muerte de plantas severamente

afectadas, la cual involucra una serie de síntomas como son: deformación de la lámina foliar, ampollamientos, clorosis, retardo en el crecimiento y amarillamientos. Esta sintomatología hace pensar en la posibilidad de un virus involucrado en dicha patología.

La enfermedad, tiene amplia distribución en las zonas de dispersión de los frijoles silvestres en Nariño y Putumayo, llegando a ocasionar grandes pérdidas. Teniendo en cuenta que este cultivo representa una fuente de alimentación humana y animal en épocas de escasez; como también un reservorio genético invaluable en los programas de mejoramiento del fríjol común, que se debe propender por la conservación del material a través del conocimiento de factores abióticos que incidan en la producción.

Por lo anteriormente expuesto se desarrolló el presente trabajo para evaluar los hospederos potenciales de la virosis, determinar los métodos de transmisión del virus presente, sus propiedades físicas y realizar estudios de microscopia electrónica para determinar forma y tamaño de partículas virales.

1. MATERIALES Y METODOS

El trabajo de investigación se desarrolló en el invernadero y en el laboratorio de Entomología de la Universidad de Nariño, además la colaboración del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira (Valle) en la unidad de Virología Vegetal.

1.1. Transmisión mecánica. Se seleccionaron plantas de frijoles perennes con síntomas típicos de la enfermedad, posiblemente asociados al virus en estudio, en los corregimientos de San Andrés, Municipio de Santiago y Sibundoy, Putumayo, ubicado a 21° 22' 42" al Norte y 76° 59' 18" al Oeste, Mapachico y Genoy en el municipio de Pasto, departamento de Nariño, ubicado a 00° 31' 08" al Sureste, 02°

41°08' Latitud Norte y 76° 51'19" y 79° 01' 34" Longitud Oeste. Bajo estas condiciones se observaron síntomas como: mosaicos, deformación, amarillamiento, clorosis, ampollamientos y enanismo. (Figuras 1-2-3-4). Se tomaron tejidos foliares jóvenes y se transportaron al invernadero de la Universidad de Nariño, recubriendo las hojas con papel toalla humedecida, colocándose dentro de bolsas de papel aluminio para evitar su deterioro y realizar pruebas de transmisión.



Fig. 1. Síntomas presentados por en fríjol (Ampollamientos)



Fig.2. síntomas presentados en fríjol (Clorosis)



Figura 3. Distorsion de la lámina foliar presentada en frijol



Fig. 4. Retardo en el crecimiento en plantas de fríjol.

Figuras 1-2-3-4. Síntomas registrados en plantas de frijol (*Phaseolus polyanthus* Greenman), en condiciones de campo, cultivo localizado en el Municipio de Sibundoy (P)

Como potenciales indicadoras del virus se utilizaron las especies: (*Phaseolus spp*), Quinoa (*Chenopodium quinoa* L), Tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), Arveja (*Pisum sativum* L.), Garbanzo (*Cicer arietinum* L), Haba (*Vicia faba* L), Lenteja (*Lens culinaris medik*), Maní (*Arachis hypogea* L), sembrándose 30 plantas por especie. Veinte días después de la emergencia, se inocularon en forma mecánica con extracto recién extraído de plantas de fríjol infectadas utilizándose el procedimiento descrito por Lawson y Brunt (1995), el cual consiste en el maceramiento de tejidos infectados en mortero de porcelana adicionándose agua esterilizada, la cual fue frotada suavemente sobre la superficie de las hojas, dejándose 10 plantas inoculadas con agua destilada como testigo por cada especie. Las evaluaciones se realizaron cada 2 días durante dos meses, contándose el número de plantas infectadas y el tiempo de aparición de los primeros síntomas, a fin de evaluar la incidencia a partir de la expresión de los síntomas relacionados con el disturbio.

1.2. Determinación de algunas características físicas. Se determinó el punto final de dilución y la longevidad *in vitro*, con la metodología descrita por Dijkstra y De Jager (1998).

1.2.1. Punto final de dilución. Consistió en tomar 10 ml de extracto correspondiente a una concentración a 10^0 e inocular mecánicamente las plantas de frijol (*P. polyanthus* Greenman). Del extracto se tomó 1ml y se diluyó en 9 ml de agua obteniéndose una dilución de 10^{-1} con el cual se realizó una nueva inoculación mecánica y así sucesivamente se realizaron diluciones hasta 10^{-6} siguiendo el mismo procedimiento y realizando las respectivas inoculaciones mecánicas con 10 plantas por cada dilución, dejando la misma cantidad de plantas como testigo.

1.2.2. Longevidad *in vitro*. Para la prueba de longevidad *in vitro* se tomaron tejidos foliares infectados, macerándose y llevándose a tubos de ensayo en un volumen de 2 ml por tratamiento, los cuales se taparon con papel aluminio y se guardaron a temperatura ambiente en el laboratorio (20^0C), las transmisiones se realizaron durante diferentes tiempos de conservación del inóculo 1, 5, 10, 15, 20, 25 y 32 días y un testigo con extracto inmediatamente extraído. Una vez transcurrido cada uno de los tiempos, se inocularon mecánicamente 20 plantas de frijol (*P. polyanthus* Greenman), determinándose el tiempo en el cual no se presentaron síntomas visibles.

1.3. Transmisión por insectos. Para la transmisión por insectos, se capturaron áfidos en los lotes afectados, los cuales fueron cuidadosamente retirados de las plantas con un pincel fino y colocados en cajas Petri con segmentos de hoja de frijol sano sobre papel filtro humedecido; luego se transportaron al invernadero de la Universidad de Nariño, donde se criaron colonias a partir de insectos recién paridos con el objetivo de obtener áfidos libres de virus. Los insectos fueron mantenidos en plantas sanas de frijol que se encerraron en jaulas entomológicas para evitar cualquier tipo de contaminación.

Para las pruebas de transmisión se tomaron grupos de 1, 3, 5 y 10 individuos, los cuales se dejaron en cajas Petri con papel toalla humedecida con periodos de

ayuno de 20 minutos previo a la adquisición del virus. Los insectos fueron trasladados con un pincel de punta fina hacia las plantas enfermas y una vez insertaron su estilete en el tejido se probaron tiempos de adquisición del virus de 40, 80 y 120 segundos (Matthews, 1991). Después, los áfidos se transportaron a las plantas indicadoras, (*Phaseolus spp*), Quinoa (*Chenopodium quinoa* L), Tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), Arveja (*Pisum sativum* L.), Garbanzo (*Cicer arietinum* L), Haba (*Vicia faba* L), Lenteja (*Lens culinaris medik*), Maní (*Arachis hypogea* L), utilizando 30 plantas de cada una, se probaron los diferentes tiempos de inoculación 40, 80 y 120 segundos; una vez pasada la inoculación, los insectos fueron eliminados con Sistemín (Dimetoato) en dosis de un centímetro cúbico por litro de agua. La evaluación se realizó mediante observaciones semanales hasta que aparecieron los síntomas. Así se determinó el mejor tiempo de adquisición e inoculación.

La identificación del vector se realizó en el laboratorio de Entomología de la Universidad de Nariño, siguiendo las claves taxonómicas para la identificación de áfidos descritas por Bustillo y Sánchez (1986).

1.4. Transmisión por semilla. Para las pruebas de transmisión por semilla, en condiciones de campo se tomaron vainas de 30 plantas sintomáticas de frijol perenne (*Phaseolus polyanthus* Greenman) de las cuales se extrajo la semilla, sembrándose éstas, en bolsas plásticas de 2 kg, las cuales fueron colocadas y distribuidas en el invernadero de la Universidad de Nariño. Se realizaron evaluaciones cada dos días durante un periodo de dos meses después de la germinación para evaluar aparición de síntomas e incidencia.

La incidencia en pruebas de transmisión y propiedades físicas se determinaron mediante la fórmula de Van Der Plank (1963)

$$I (\%) = \frac{\text{No de plantas enfermas}}{\text{No total de plantas}} \times 100$$

1.5. Microscopia electrónica. Para comprobar la presencia de partículas virales, se contó con la colaboración del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira (Valle) en la unidad de virología vegetal. Donde se realizaron observaciones de tejidos foliares procedentes de plantas sintomáticas en el microscopio electrónico, para verificar forma y tamaño, y así tener un criterio taxonómico adicional para la identificación.

2. RESULTADOS Y DISCUSION

Transmisión mecánica y rango de hospedantes. En las pruebas realizadas en frijol (*Phaseolus polyanthus* Greenman) fue la especie en la cual se dio la mayor ocurrencia de los síntomas con una eficiencia en la transmisión de un 93% con un total de 28 plantas afectadas de 30 plantas evaluadas, en las cuales se manifestó la sintomatología entre los 18 y 22 días después de la inoculación presentándose en la lámina foliar inicios de ampollamientos, clorosis y deformación de hojas. En frijol común (*Phaseolus vulgaris* L) la eficiencia fue del 83% con un total de 25 plantas afectadas de 30 plantas evaluadas, presentando síntomas como ampollamientos y deformación de hojas.

Y por último en haba (*Vicia faba* L) se presentó una eficiencia del 33% de transmisión con 10 de 30 plantas, presentando síntomas como malformación de hojas y clorosis. (Fig.5).

En las demás especies probadas como Quinoa (*Chenopodium quinoa* L), Tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), Arveja (*Pisum sativum* L.), Garbanzo (*Cicer arietinum* L), Lenteja (*Lens culinaris medik*), Maní (*Arachis hypogea* L), no se presentaron síntomas. (Tab. 1).



Figura 5a.

Figura 5b.

Figura 5. Síntomas registrados en haba (*Vicia faba* L) a partir de transmisión mecánica – 5a). Deformación de la lámina foliar y 5b). Clorosis.

Este rango de especies afectadas, hace suponer que el virus tiene una alta especificidad respecto a las especies de frijoles.

Según Hernández y Miranda, (1959), afirman que *Phaseolus vulgaris* L. y *Phaseolus polyanthus* Greenman, comparten caracteres cercanos genéticamente. Matthews (1991), asegura que los posibles hospederos de un virus son en ocasiones un número reducido, que se rigen por la compatibilidad tanto del hospedante como del patógeno causante, que puede actuar como activante o contrarrestar el efecto patogénico.

Estos resultados, de transmisión mecánica, confrontados a la alta distribución de la enfermedad hacen suponer que por los altos porcentajes obtenidos en las dos especies de frijoles, se debe posiblemente a su estrecha relación taxonómica de la especie en estudio.

Tabla 1. Transmisión mecánica de virus en 3 especies de plantas

TRANSMISION MECANICA			
ESPECIE	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS INFECTADAS	% EFICIENCIA DE TRANSMISION
TESTIGO (<i>Phaseolus polyanthus</i> Greenman)	30	28	93
FRIJOL (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	30	25	83
HABA (<i>Vicia faba</i> L.)	30	10	33

DETERMINACION DE ALGUNAS CARACTERISTICAS FISICAS

Punto final de dilución. Se trabajo con 6 diluciones, que se realizaron a partir de extracto (10^0) y se procedió a inocular mecánicamente plantas testigo de frijol (*P. polyanthus* Greenman), 20 plantas para cada dilución.

La eficiencia de transmisión con extracto sin diluir (10^0) fue del 90%, y que a partir de la quinta dilución 10^{-5} , el virus pierde sus propiedades infectivas.

Encontrándose que la máxima dilución que soporta el virus para continuar siendo infectivo esta entre 10^{-4} y 10^{-5} del punto final de dilución del virus en estudio.

Estas características en el punto final de dilución proponen una estabilidad considerable en el medio ambiente, que puede influir en los procesos de trasmisión mecánica en el campo. (Tab. 2)

Por su parte Campos (1987) afirma que virus como el mosaico común y amarillo en frijol, los puntos finales de inactivación se alcanzan con diluciones de 10^{-3} a 10^4 en virus filamentosos.

Tabla 2. Punto Final de Dilución del virus en frijol.

DILUCIÓN	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS INFECTADAS	EFICIENCIA %
10^0	20	18	90
10^{-1}	20	11	55
10^{-2}	20	6	30
10^{-3}	20	3	15
10^{-4}	20	1	5
10^{-5}	20	0	0
10^{-6}	20	0	0

Longevidad in vitro. Para determinar la longevidad *in vitro* se colocó 2 ml de extracto de plantas de frijol (*Phaseolus polyanthus* Greenman) sintomáticas en tubos de ensayo, los cuales se sellaron y se guardaron a temperatura ambiente (testigo- día 0) y diferentes tiempos de conservación del inóculo 1, 5, 10, 15, 20, 25 y 32 días, se inocularon 20 plantas de frijol. Con el testigo se obtuvo una

eficiencia del 95% con 19 plantas infectadas y a los 10 días una eficiencia del 5% con 1 planta infectada.

Se pudo determinar a partir de esta prueba que la longevidad del virus se extendió hasta los 10 días, lo cual está dentro de los rangos propuestos para muchos Potyvirus, transmitidos por áfidos y mecánicamente, como por ejemplo el PVY y el PVS (Matthews, 1991) (Tab. 3).

Tabla 3. Longevidad *in Vitro* del virus en fríjol.

DIAS	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS INFECTADAS	EFICIENCIA%
0	20	19	95
1	20	16	80
5	20	6	30
10	20	1	5
15	20	0	0
20	20	0	0
32	20	0	0

Según las propiedades físicas de los virus en frijol que se tiene información se ha podido establecer diferencias entre este y los virus de mayor importancia, como son:

- ✓ El Virus del Mosaico Común (BCMV) tiene un punto final de dilución es de 10^{-3} y su longevidad *in vitro* es de 78 horas. (Campos, 1987).
- ✓ El Virus del Mosaico Amarillo (BYMV) tiene un punto final de dilución que esta entre 10^{-3} y 10^{-4} , y su longevidad *in vitro* es de 2 hasta 7 días. (Campos, 1987).
- ✓ El Virus del Mosaico Dorado (BGMV) tiene un punto final de dilución de 10^{-1} y 10^{-2} y su longevidad *in vitro* de 48 horas. (Campos, 1987).

El virus en estudio presento una longevidad *in vitro* de 10 días y un punto final de dilución de 10^{-5} . Con lo cual se establece que después de 10 días de

conservación del inóculo y para una concentración menor de 10^{-5} , es muy poco probable que haya infección en plantas de frijol.

Transmisión por áfidos. Se obtuvo resultados positivos de transmisión con el áfido, en *Phaseolus polyanthus* Greenman y en *Phaseolus vulgaris* L. con un 93% y un 53% de eficiencia respectivamente, los cuales se presentaron con un periodo de ayuno de 20 minutos, llegando a 120 segundos como tiempo óptimo de adquisición e inoculación, por el método de transmisión no persistente, comprobándose que el insecto porta el virus en el estilete.

En las demás especies de plantas indicadoras no se obtuvieron resultados positivos, posiblemente por la especificidad del virus y su relación con el vector. (Tab. 4).

Tabla 4. Transmisión del virus por el áfido (*Picturaphis vignaphilus* Blanchard), en grupos de 10 en dos especies de plantas con un período de adquisición de 40, 80 y 120 segundos, con un período de ayuno de 20 minutos.

ESPECIE	% EFICIENCIA EN LA TRANSMISION EN DIFERENTES TIEMPOS DE ADQUISICION			PLANTAS INFECTADAS EN DIFERENTES PERIODOS DE INOCULACION		
	40 SEG.	80 SEG.	120 SEG	40 SEG.	80 SEG.	120 SEG.
	TESTIGO (<i>Phaseolus polyanthus</i> Greenman)	26	60	93	30/8	30/18
FRIJOL (<i>Phaseolus vulgaris</i> L)	20	36	53	30/6	30/11	30/ 16

Los síntomas en frijol se manifestaron en las hojas jóvenes en un período de incubación de 25 y 30 días, presentándose deformación de la lámina foliar, clorosis generalizada, ampollamientos, coincidiendo con los síntomas observados en campo.

La transmisión por áfidos del virus en estudio, permite descartar la relación existente con otros de similar sintomatología, tales como el Virus del Moteado

Clorótico (BCLMV) y el Virus del Mosaico Dorado (BGMV), donde la transmisión biológica, según López, (1985) se realiza por medio de la mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn).

De igual forma que la transmisión mecánica, la transmisión por áfidos, cuya eficiencia fue superior al 93%, cuando se emplearon 10 áfidos representa una situación de riesgo en las regiones productoras de frijol, ya que se pudo establecer la relación del insecto con las plantas enfermas en las localidades donde está presente el disturbio.

Los áfidos son vectores muy eficientes del BCMV; no se requiere de una alta infección inicial en el cultivo, para tener en corto plazo el campo completamente afectado por el mosaico debido a la acción de los áfidos. (López, 1985)

En el caso, del BYMV la enfermedad es transmitida por áfidos. Estos pulgones son los principales transmisores, ya que al alimentarse de plantas enfermas de frijón o de otros hospedantes transmiten el virus a las plantas sanas. (Campos, 1987).

Identificación del vector. En el laboratorio de Entomología de la Universidad de Nariño, se logró identificar individuos ápteros de color marrón oscuro a negro, cornícolas negros en la base, blanquecinos hasta la mitad siendo la otra mitad distal de color marrón; son 1.7 a 2.0 veces mas largos que la cauda. Cauda adelgazándose, placa anal redondeada. Las antenas son mas largas que el cuerpo, de color marrón excepto los segmentos III y IV que son blanquecinos. Con base a las anteriores características se determinó la especie *Picturaphis vignaphilus* Blanchard como vector del virus en estudio. (Figura 6)



Figura 6. Forma áptera del áfido *Picturaphis vignaphilus* Blanchard.

Transmisión por semilla. Durante los dos meses de evaluación bajo condiciones de invernadero se pudo establecer que el virus se transmite por semilla sexual con una eficiencia del 66% con un total de 33 de 50 plantas sintomáticas. (Tab. 5). Los síntomas se presentaron entre 29 y 36 días después de la germinación, manifestando enanismo, ampollamientos, deformación de la lámina foliar, amarillamientos.

Tabla 5. Transmisión por semilla en frijol (*Phaseolus polyanthus* Greenman)

TRANSMISION POR SEMILLA			
ESPECIE	TOTAL PLANTAS	PLANTAS INFECTADAS	% EFICIENCIA DE TRANSMISION
TESTIGO (<i>Phaseolus polyanthus</i> Greenman)	50	33	66

Se conoce aproximadamente un centenar de virus transmitidos por semillas. Sin embargo, como regla general, solo una pequeña cantidad (del 1 al 30%) de las semillas que provienen de plantas infectadas por un virus, lo transmiten, de ahí que la frecuencia de transmisión varíe según la relación que se establezca entre el virus y su hospedero, incluso dentro de una misma especie. Las diferentes variedades o plantas inoculadas en distintas etapas de su desarrollo, pueden variar

en los porcentajes de semillas que transmiten el virus. Síntomas como enanismo o achaparramiento, mosaicos y clorosis son atribuidos a infecciones sistémicas producidas por los virus. (Agrios, 1986).

Según Morales (1985), el virus del Mosaico Común (BCMV) en frijol es el único que se transmite por semilla; hasta un 83% de las semillas enfermas producen plantas infectadas, siendo esta la fuente más importante de infección del virus. Este tipo de enfermedad es de gran importancia desde el punto de vista epidemiológico, ya que las plantas se enferman desde sus primeros estados de desarrollo y el virus tiene un mayor efecto deletéreo sobre su desarrollo y producción.

Microscopia electrónica. La prueba de microscopia electrónica realizada en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira, Valle, mediante la técnica de tinción negativa, presentó partículas flexuosas de 700 X 15 nanómetros, demostrando la presencia evidente de un virus. (Fig. 7)

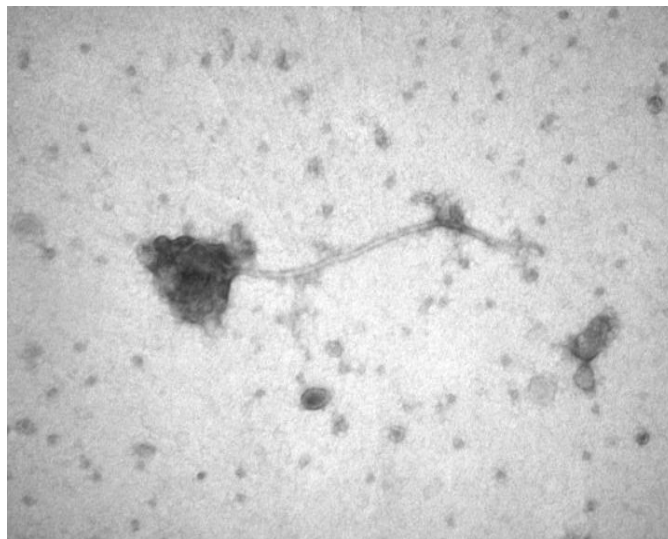


Foto: José Arroyabe (2010).
120.000 X.

Figura 7. Micrografía Electrónica tomada a la partícula de virus en frijol.

Al comparar este tipo de partícula con virus de *Phaseolus Vulgaris* que se han observado al microscopio electrónico, como son el virus del Mosaico Común y el virus del Mosaico Amarillo, estos presenta partículas filamentosas que miden 750x15 nm y pertenecen al género de los Potyvirus. Se puede observar que la partícula del virus en estudio tiene mucha similitud con la del virus del Mosaico Común ya que los dos virus son transmitidos por áfidos y por semilla y puede ser que este virus sea una variante del mosaico común.

Existe una diferencia con respecto a otros virus por el vector que transmite la enfermedad como son el Mosaico Sureño y el Mosaico Rugoso presentan partículas de 30 nm del género Comovirus y el virus del Mosaico Suave y Mosaico Severo tienen partículas isométricas de 28 y 30 nm respectivamente y pertenecen al grupo de Sobemovirus, estos virus son transmitidos por crisomélidos del género *Cerotoma* y *Diabrotica*. Además del Mosaico Dorado y el Mosaico Enano con partículas de 19 nm pertenecientes al grupo de los Geminivirus transmitidos por la mosca blanca *Bemisia tabaci* Genn (Morales y Castaño 1988)

Sin embargo, la forma y tamaño es solo un criterio taxonómico que ayuda a orientar su ubicación dentro de un grupo o taxa; pero por si solo no es concluyente, por tal razón es necesario hacer pruebas moleculares para poder ubicar al virus dentro de un género.

3. CONCLUSIONES

El disturbio presentado en frijol *Phaseolus polyanthus* Greenman, en los municipios Sibundoy y Pasto, por sus características de transmisión mecánica, por áfidos y las pruebas fisicoquímicas está asociada a un virus

Se pudo concluir que la transmisión mecánica y por semilla son las formas más eficientes de transmisión del virus, y que posiblemente sean la causa de la amplia distribución en zonas de Nariño y del Alto Putumayo principalmente; además del áfido *Picturaphis vignaphilus* Blanchard, que es el vector del virus

Los síntomas están asociados a un virus flexuoso de 700 x 15nm. La forma de la partícula, su tipo de vector y las propiedades fisicoquímicas hacen pensar que se trata de un virus del género Potyvirus.

BIBLIOGRAFIA

AGRIOS, G. 1986. Fitopatología. México: Limusa. 718 p.

BUSTILLO, A. y G. SANCHEZ, 1986. Los áfidos en Colombia, plagas que afectan los cultivos agrícolas de importancia económica. Bogotá: ICA-Colciencias. 96 p.

CAMPOS, A., J.1987. Enfermedades del Frijol. Trillas. México. 77 P.

DIJKSTRA, J. y DE JAGER, C. 1998. Practical Plant Virology. New York: Pro Edit. 459 p.

HERNANDEZ, E., S. MIRANDA, C., y C. PRYWER.1959. El origen de *Phaseolus coccineus* L. Darwinianas Hdez – x y Miranda –C Subespecie nueva. Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural. 20. 99-191.

LAWSON, R. y A. BRUNT, 1995. Virus and virus – like diseases of bulb and flower crops. New York: John Wiley and sons. 117 p.

LOPEZ, M. 1985. Fríjol Investigación y Producción. CIAT. 41 Pág.

MATTHEWS, R. 1991. Plant virology, New York: Academic Press. 835 p.

MORALES, F. 1985. Metodología de la Investigación y Técnicas de Control. CIAT. 217p.

MORALES, F. y CASTAÑO, M. 1988. Principales Enfermedades Virales del Frijol en América Latina y su Control. CIAT. 36 p.

SAÑUDO B, O. CHECA y G. ARTEAGA . 2001. Perspectivas para el Desarrollo Agrícola de la Zona Triguera de Nariño. Pasto, Colombia. 214. p.

VAN DER PLANK, J.E. 1963. Plant diseases epidemics and control. New York: Academic Press. 348 p.