

**ESTUDIO DE LA ETIOLOGIA DE UN NUEVO DISTURBIO EN MAIZ (*Zea mays*
Linneo) PRESENTE EN LA ZONA SUROCCIDENTAL DEL DEPARTAMENTO
DE NARIÑO**

**DIEGO FERNANDO AZA BURGOS
JAIRO EDGAR MARTINEZ ESTRELLA**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS
PROGRAMA DE INGENIERIA AGRONOMICA
SAN JUAN DE PASTO
2005**

**ESTUDIO DE LA ETIOLOGIA DE UN NUEVO DISTURBIO EN MAIZ (*Zea mays*
Linneo) PRESENTE EN LA ZONA SUROCCIDENTAL DEL DEPARTAMENTO
DE NARIÑO**

**DIEGO FERNANDO AZA BURGOS
JAIRO EDGAR MARTINEZ ESTRELLA**

**Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al título de
INGENIERO AGRÓNOMO**

**Presidente de Tesis
CARLOS ARTURO BETANCOURTH GARCIA I.A., M.Sc.**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS
PROGRAMA DE INGENIERIA AGRONOMICA
SAN JUAN DE PASTO
2005**

“Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado son responsabilidad exclusiva de sus autores.

Artículo 1º del Acuerdo No. 324 de Octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño”.

Nota de aceptación:

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

San Juan de Pasto, abril de 2005

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

Carlos Arturo Betancourth García, Ingeniero Agrónomo M. Sc. Docente Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño.

Luis Eduardo Vicuña Dorado. Ingeniero Agrónomo M. Sc. Docente Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño.

Claudia Salazar González. Ingeniera Agrónoma M. Sc. Docente Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño.

Francisco Santander. Ingeniero Agrónomo M. Sc. Agropecuaria La Hacienda, San Juan de Pasto

Antonio Bolaños. Ingeniero Agrónomo M. Sc. Centro de Investigación CORPOICA, Obonuco, Nariño

Benjamin Sañudo Sotelo. Ingeniero Agrónomo. Docente Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño.

La Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Nariño.

Todas aquellas personas que de una forma u otra colaboraron en la realización del presente trabajo.

A

Dios

Mis padres

Mis hermanos

Mi tío Alberto

Mis familiares

Mis amigos

Diego Fernando Aza Burgos

A

Dios

Mis padres

Mis hermanas

Mis sobrinos

Mis familiares

Mis amigos

Jairo Edgar Martínez Estrella

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCION	19
1. MARCO REFERENCIAL	21
1.1 GENERALIDADES	21
1.2 PRINCIPALES ENFERMEDADES VIRALES DEL CULTIVO DE MAÍZ	22
1.2.1 Virus del Mosaico del Maíz (MMV)	22
1.2.2 Virus del Mosaico Enanizante del Maíz (MDMV)	22
1.2.3 Virus del Rayado Fino del Maíz (MRFV)	23
1.2.4 Virus del Rayado Colombiano del Maíz (MRCV)	23
1.2.5 Virus del Bandeado del Maíz (MStpV)	24
1.2.6. Virus del Rayado del Maíz (MSV)	24
1.2.7 Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar (SCMV)	25
1.2.8 Virus del Moteado Clorótico del Maíz (MCMV)	25
1.2.9 Virus del Enanismo Clorótico del Maíz (MCDV)	26
1.3 DISTURBIOS OCASIONADOS POR FITOPLASMAS EN EL CULTIVO DE MAIZ	26
1.3.1 Achaparramiento tipo "M" o Enanismo arbustivo del maíz	27
1.3.2 Achaparramiento tipo "S" o Achaparramiento del maíz	27
1.4 IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LOS VIRUS EN EL CULTIVO DE MAIZ	28
1.5 METODOS DE INVESTIGACION EN VIROLOGIA VEGETAL	28
1.5.1 Transmisión mecánica	28

1.5.2 Transmisión por insectos	29
1.5.3 Transmisión por semilla	29
1.6 PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS DE LOS VIRUS	29
1.6.1 Punto final de dilución (PFD)	29
1.6.2 Longevidad <u>In vitro</u> (LIV)	30
1.6.3 Punto termal de inactivación (PTI)	30
2. DISEÑO METODOLOGICO	31
2.1 LOCALIZACIÓN	31
2.2 FUENTE DE INÓCULO	31
2.3 PROCESAMIENTO ESTADISTICO	31
2.4 TRANSMISIÓN MECÁNICA	31
2.5 MULTIPLICACION DE HOSPEDANTES ALTERNOS Y PLANTAS INDICADORAS	33
2.6 DETERMINACION DE LAS PROPIEDADES FÍSICO – QUÍMICAS DEL IRUS	33
2.6.1 Longevidad <u>in vitro</u> (LIV)	33
2.6.2 Punto final de dilución (PFD)	33
2.6.3 Punto termal de inactivación (PTI)	34
2.7 TRANSMISIÓN POR INSECTOS	34
2.8 IDENTIFICACION DEL VECTOR	35
2.9 TRANSMISIÓN POR SEMILLA	35
2.10 PRUEBAS DE PATOGENICIDAD	36
2.11 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA	36
3. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	37

3.1 TRANSMISION MECANICA Y RANGO DE HOSPEDANTES	37
3.2 HOSPEDANTES ALTERNOS Y PLANTAS INDICADORAS	40
3.3 PROPIEDADES FISICO – QUIMICAS	41
3.4 TRANSMISION POR INSECTOS	45
3.5 IDENTIFICACION DEL VECTOR	50
3.6 TRANSMISION POR SEMILLA	51
3.7 PRUEBAS DE PATOGENICIDAD	52
3.8 MICROSCOPIA ELECTRONICA	53
4. CONCLUSIONES	55
5. RECOMENDACIONES	56
BIBIL OGRAFIA	57
ANEXOS	60

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Eficiencia de la transmisión mecánica del virus en diferentes especies de plantas	37
Cuadro 2. Longevidad <u>In vitro</u> del virus en maíz	42
Cuadro 3. Punto termal de inactivación del virus en maíz	42
Cuadro 4. Punto final de dilución del virus en maíz	42
Cuadro 5. Transmisión del virus por áfidos del género <i>Rhopalosiphum</i> en grupos de 10 insectos, en diferentes especies de plantas con un período de inoculación de 10 minutos, un período de ayuno de 20 minutos y diferentes períodos de adquisición.	46
Cuadro 6. Transmisión del virus por áfidos del género <i>Rhopalosiphum</i> en grupos de 10 insectos, en diferentes especies de plantas con un período de adquisición de 5 minutos, un período de ayuno de 20 minutos y diferentes períodos de inoculación.	47
Cuadro 7. Eficiencia de transmisión del virus en maíz por áfidos del género <i>Rhopalosiphum</i> en grupos de 1, 3, 5 y 10 por planta con un período de adquisición de 5 minutos y un período de inoculación de 10 minutos y un período de ayuno de 20 minutos.	48

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Síntomas registrados en plantas de maíz, en condiciones de campo, cultivos localizados en el municipio de Guaitarilla y la vereda San Germán, a) Punteado clorótico en la base de las hojas. b) Bandeado clorótico desuniforme paralelo a las nervaduras c) Planta enana por acortamiento de entrenudos; d) Plantas con estado avanzado de la enfermedad.	32
Figura 2. Síntomas presentados en plantas de maíz, bajo condiciones de invernadero por medio de transmisión mecánica. a) Moteado clorótico en la base de las hojas b) Hojas con manchas cloróticas en estado avanzado. c) Bandeado irregular paralelo a las nervaduras de la hoja; d) Detención en el crecimiento evidenciado por el acortamiento de entrenudos.	38
Figura 3. Síntomas registrados en invernadero en plantas de trigo a partir de transmisión mecánica. a) presencia de puntos cloróticos las hojas; b) planta con necrosis foliar	41
Figura 4. Curvas de la Longevidad <u>In Vitro</u> , Punto termal de inactivación y Punto final de dilución	43
Figura 5. Síntomas registrados en plantas de maíz bajo condiciones de invernadero a través de transmisión por insectos. a) Bandeado clorótico ascendente desde la base de las hojas; b) Planta con manchas cloróticas dispersas presentes en todas las hojas; c) Acortamiento drástico de entrenudos	49
Figura 6. Síntomas presentados en plantas de maíz bajo condiciones de invernadero a través de transmisión por semilla. a) Moteado clorótico en la base de hojas jóvenes acompañado de manchas irregulares en hojas verdaderas b) Bandas cloróticas ascendentes paralelas a las nervaduras de las hojas	52
Figura 7. Síntomas recuperados a través de transmisión mecánica de trigo a maíz. a) Presencia de manchas cloróticas irregulares generalizadas en la planta; b) formación de bandas cloróticas paralelas a las nervaduras de las hojas.	53
Figura 8. Partículas del virus en maíz observadas mediante microscopio electrónico de transmisión.	54

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Clave general para las especies de afidos apteros de Colombia	61

GLOSARIO

CARBORUNDUM: abrasivo utilizado en virología para causar laceraciones.

CEPA: variación genética de un patógeno

ETIOLOGÍA: estudio de la causa de una enfermedad.

FISION BINARIA: sistema de reproducción en organismos unicelulares donde cada célula se parte en dos.

GEMACION: sistema de duplicación de organismos unicelulares donde se forma una yema que recibe uno de los núcleos mitóticos y una porción de citoplasma.

INOCULO: mínima estructura de un patógeno capaz de iniciar una enfermedad.

ISOMETRICO: cuerpo de forma poliédrica

LACERAR: causar heridas mediante el uso de un abrasivo.

LONGEVIDAD IN VITRO: tiempo en que un virus permanece infectivo por fuera del hospedante

MACERAR: moler tejido vegetal con la ayuda de un mortero.

PLEOMORFICO: partícula que puede adoptar diferentes formas

PUNTO FINAL DE DILUCION: concentración mínima a la cual un virus todavía es infectivo.

PUNTO TERMAL DE INACTIVACION: temperatura a la cual un virus ya no es infectivo.

TRANSMISIÓN: paso de un patógeno de una planta enferma a una planta sana.

TRANSOVARICO(A): capacidad de un patógeno para pasar a la siguiente generación de su organismo portador

VECTOR: organismo capaz de transmitir un agente patógeno.

VIROSIS: enfermedad causada por un virus

VIRUS: patógeno constituido por ácido nucleico y proteína.

RESUMEN

En localidades del municipio de Guitarilla, departamento de Nariño, en el año 1998 se detectó una enfermedad de etiología viral, atacando cultivos de maíz que manifiestan síntomas como puntos cloróticos en la base de las hojas jóvenes que progresan a bandas cloróticas gruesas e irregulares, acortamiento de entre nudos y mal formación en mazorcas.

Todos los síntomas fueron recobrados mediante inoculación mecánica logrando una eficiencia de transmisión de maíz a maíz siempre superior al 78%, manifestando síntomas entre 11 y 15 días después de la inoculación.

En pruebas de transmisión de maíz a trigo (*Triticum vulgare*) la eficiencia fue del 25.71% presentando moteados ligeros en las hojas, evidenciados a los 21 días de la inoculación, en plantas de cebada (*Hordeum vulgare*), triticale (*Triticum secale*), avena (*Avena sativa*), raigrass ubade (*Lolium multiflorum*), kikuyo (*Pennisetum clandestinum*), jurillo (*Paspalum hirtum*) pasto brasilero (*Phalaris* sp.), maicillo (*Paspalum prostratum*), tabaco (*Nicotiana tabacum*), frijol (*Phaseolus vulgaris*) quinua (*Chenopodium quinua*), pepino (*Cucumis sativum*) y tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum*) no se presentaron síntomas.

Se presentó transmisión del virus por semilla en un 12.5% así como por áfidos del género *Rhopalosiphum* en forma no persistente, con una eficiencia del 3.13%, 9.38%, 12.5% y 15.62% con 1, 3, 5 y 10 insectos respectivamente, con un periodo de inoculación de 10 minutos y un periodo de adquisición de 20 minutos

Respecto a las propiedades físico-químicas del virus, la Longevidad In vitro fue de 29 días, el punto final de dilución estuvo entre 10^{-4} y 10^{-5} y el punto termal de inactivación fue de 75 °C, observaciones hechas en tejido sintomático mediante microscopio electrónico de transmisión evidenciaron la presencia de partículas isométricas de 30 nm. de diámetro.

Las pruebas realizadas y la sintomatología presentada indicaron la presencia de un virus diferente a los estudiados, pues no presenta relación específica y completa con los virus ya reportados en maíz en zonas tropicales.

ABSTRACT

In the districts of Guaitrailla township, in the Nariño department, in 1998, it detected a sick of viral etiology attacking the maize crops that present symptoms like chlorotic points on the base of the young leaves that progress to chlorotic bands, coarse and irregular shortening between nodes and malformation in cobs

All the symptoms were recovered mechanical inoculation obtaining an efficiency of transmission of maize to maize always upper to 78% presenting symptoms between 11 and 15 days after of inoculation.

In the test of transmission of maize to wheat, the efficiency was of 21.75%, presenting light mottles on the leaves, demonstrated to the 21 days of inoculation, in the barley plants (*Hordeum vulgare*), triticale (*Triticum secale*), oat (*Avena sativa*), raigrass (*Lolium multiflorum*), kikuyo (*Pennisetum clandestinum*), jurillo (*Paspalum hirtum*) Brazilian grass (*Phalaris* sp.), maicillo (*Paspalum prostratum*), tobacco (*Nicotiana tabacum*), bean (*Phaseolus vulgaris*) quinoa (*Chenopodium quinoa*), cucumber (*Cucumis sativum*) and tomato (*Lycopersicon esculentum*) didn't present symptoms

It manifested transmission of the virus by seed in a 12.5% as soon as by aphids of the gender *Rhopalosiphum* in non persistent form, with an efficiency of 3.13%, 9.38%, 12.5% and 15.68% with 1, 3, 5 and 10 insects respectively, with an inoculation period of 10 minutes and a fast period of 20 minutes.

Respect to the properties physical and chemical of the virus, the longevity In vitro was of 29 days, the dilution end point was between 10^{-4} and 10^{-5} and inactivation thermal point was 75 °C, observations made in symptomatic foliar tissue through transmission electron microscope evidenced isometric particles of 30 nm of diameter.

The test made and the symptomatology presented showed the presence of a different virus to the studied, since don't present a specific and complete relation with the virus reported in the maize in tropical zones.

INTRODUCCION

Para Ospina en Colombia, “el maíz (*Zea mays* Linneo) es uno de los cultivos de mayor importancia que se pueda sembrar en todos los pisos térmicos y es la base de la dieta alimenticia en la mayoría de las diferentes regiones; su uso y consumo aumenta cada año por la gran demanda para la alimentación animal y transformación industrial”¹.

Según datos de la Secretaria de Agricultura

En el departamento de Nariño, el maíz es el cereal más cultivado y ocupa el quinto lugar en superficie sembrada después de la palma de aceite, la papa, el café y el plátano; para el año 2004 en el departamento se sembraron 13860 hectáreas del grano con un rendimiento promedio de 1.63 toneladas por hectárea superando el promedio nacional de 1.33 en siembras tradicionales.²

“El maíz se cultiva en los más variados ambientes, situación que hace a la planta susceptible al ataque de gran número de enfermedades en zonas tropicales que al no ser conocidas con anterioridad han llegado a ser limitantes en el rendimiento y calidad final de la cosecha”³

A partir del año 1998 en la zona sur occidental del departamento de Nariño, se viene presentado un disturbio de etiología viral en el cultivo de maíz, caracterizado por el achaparramiento de las plantas con distintas tonalidades cloróticas en las hojas y daño en la formación y producción de las mazorcas.

Con estos antecedentes se decidió estudiar su etiología, para obtener claridad hacia futuro en el establecimiento de estrategias de manejo adecuadas para la enfermedad.

Así, en el presente trabajo se dio cumplimiento a los siguientes objetivos:

Estudiar los mecanismos de transmisión del agente causante: mecánica, vectores y semilla

¹ OSPINA, José. Tecnología del cultivo de maíz. Santa Fe de Bogotá : Fondo Nacional Cerealista, 1999. p.11.

² NARIÑO. SECRETARIA DE AGRICULTURA. Consolidado Agropecuario acuícola y pesquero: Sección de informática y estadística. San Juan de Pasto : s.n., 2004. p. 51.

³ DE LEON, Carlos. Enfermedades del maíz causadas por hongos. En I Curso Internacional Sobre Diagnóstico y Enfermedades en Maíz. Cochabamba: CIMMYT, 1997. p. 17

Determinar las propiedades físico químicas del agente causante: LIV (Longevidad In vitro) PFD (Punto final de dilución) y PTI (Punto termal de inactivación).

Reconocer los hospedantes del agente causante en gramíneas cultivadas, malezas y plantas indicadoras.

Determinar la morfología y el tamaño del agente causante.

1. MARCO REFERENCIAL

Respecto a las enfermedades de tipo viral en el cultivo de maíz, Morales y De León afirman que: “se han venido incrementando en los últimos años en todos los países productores, especialmente en los tropicales, causando serios perjuicios al cultivo, en algunos casos su identificación se torna difícil al encontrarse complejos virales por la presencia de varios virus en una misma planta”⁴

Teniendo en cuenta que el problema estudiado, está relacionado con un virus que afecta el cultivo de maíz, a continuación se hace una revisión acerca de las enfermedades de origen viral más limitantes en este cultivo, así como algunas definiciones de interés en virología vegetal; además, es interesante conocer algunas referencias sobre disturbios ocasionados por fitoplasmas, patógenos que pueden confundirse con virus.

1.1 GENERALIDADES

Para Agrios,

Los virus son partículas submicroscópicas de formas isométricas ó flexuosas capaces de generar enfermedades en su hospedante, están compuestos por material genético que puede ser ADN o ARN de cadena sencilla o doble y protegidos por una cubierta de proteína que se replica en el interior de células vivas usando la maquinaria de síntesis celular produciendo nuevas partículas que infectan nuevas células.⁵

“A diferencia de otros agentes infecciosos, los virus muchas veces no presentan síntomas destacados, por lo que pueden pasar inadvertidos o confundidos con otros factores que afectan a la planta”⁶

“En el cultivo de maíz se han registrado más de 30 virus causando distintos tipos de disturbio en las plantas afectadas; sin embargo, muchos de ellos no se presentan en forma natural en campo y otros tienen una distribución bien localizada”⁷.

⁴ MORALES, Francisco y DE LEON, Carlos. Diagnóstico de enfermedades virales en maíz. En: I Curso Internacional Sobre Diagnóstico y Enfermedades en Maíz. Cochabamba : CIMMYT, 1997. p. 29

⁵ AGRIOS, George. Fitopatología. México: Limusa, 1986. p. 312.

⁶ BAUER, María. Fitopatología. México: Limusa, 1985. p. 383.

⁷ UNIVERSITY OF IDAHO. Plant Viruses [en línea]. Idaho: s.n. Ago. 1996 [citado 12 sep, 2004]. Disponible en Internet : <URL : <http://www.image.fs.uidaho.edu/vid/sppindex.htm#M>>.

1.2 PRINCIPALES ENFERMEDADES VIRALES DEL CULTIVO DE MAÍZ

Dentro de las enfermedades virales de mayor importancia que afectan el cultivo de maíz se encuentran:

1.2.1 Virus del Mosaico del Maíz (MMV). “Este virus no se transmite mecánicamente ni por semilla, pero sí en forma persistente por el salta hojas *Peregrinus maidis* requiriendo un período de adquisición de menos de un día y un período de latencia de 11 a 29 días, la partícula tiene forma de bacilo y mide 242 nm de largo y 48 nm de diámetro”⁸

Respecto a la sintomatología del virus, Varón de Agudelo afirma que

Las hojas muestran puntos blancos a lo largo de la nervadura central los cuales al elongarse forman rayas amarillas que se prolongan desde la base a la punta de las hojas dando lugar a bandas cloróticas uniformes, también se presenta acortamiento de entrenudos y brácteas provocando que el extremo de la mazorca quede descubierto permitiendo daños por otros agentes⁹

1.2.2 Virus del Mosaico Enanizante del Maíz (MDMV). Según De León y Morales:

El virus es transmitido en forma mecánica, por semilla y por 26 especies de áfidos en forma no persistente siendo los vectores más importantes *Rhopalosiphum maidis*, *Myzus persicae*, *Aphis fabae* y *Acyrthosiphon pisum*; es un virus con forma isométrica cuyo punto termal de inactivación está entre 54 y 58 °C, su punto final de dilución oscila entre 10^{-4} y 10^{-5} y su longevidad in vitro a temperatura ambiente es de 1 a 2 días¹⁰.

Por otra parte, Morales dice que

El trastorno inicia con la presencia de pequeños puntos cloróticos en la base de las hojas que avanzan y forman un mosaico irregular y difuso en la lámina foliar con presencia de manchas pequeñas con rayas o anillos de color verde oscuro; con el tiempo las hojas cambian a un color amarillo más uniforme al tiempo que la planta reduce drásticamente su

⁸ MARTINEZ, Gerardo y VARON DE AGUDELO, Francia. Observaciones preliminares sobre la transmisión de virus en maíz por *Peregrinus maidis*. En: Revista Colombiana de Entomología. Vol. 6, No. 3-4, (1980); p.72

⁹ VARON DE AGUDELO, Francia. Enfermedades causadas por virus en maíz en el Valle del Cauca. En: ASIAVA. Vol. 6, (Agos.-Sep., 1983); p.28

¹⁰ MORALES, Francisco y DE LEON, Op.cit, p. 29

crecimiento y diámetro del tallo produciendo mazorcas deformes y mal llenadas.¹¹

1.2.3 Virus del Rayado Fino del Maíz (MRFV). León y Morales, afirman que:

El virus no se transmite en forma mecánica ni por semilla pero sí en forma persistente por el salta hojas *Dalbulus maidis* con un periodo de adquisición de 6 horas y uno de incubación de 8 a 11 días alimentándose al menos por 8 horas en plantas sanas para poder ser transmitido; el virus se multiplica en su vector por lo que es propagativo pero no transovárico, presenta forma isométrica midiendo 33 nm de diámetro y tiene un punto de inactivación térmica de 60 a 65 °C¹².

Domínguez y Cardenas¹³ coinciden en que: “La característica principal de la enfermedad es una serie de puntos cloróticos pequeños en la base de las hojas en forma paralela a las nervaduras que al unirse pueden formar rayas delgadas de cinco a diez centímetros de longitud, presentando además, enanismo y disminución del tamaño del sistema radical, espiga y mazorcas”¹³

1.2.4 Virus del Rayado Colombiano del Maíz (MRCV). Estudios realizados por Martínez, *et al.*, indican que:

Es uno de los aislamientos del virus del Rayado fino del maíz (MRFV), ampliamente diseminado en América; el virus es transmitido por el Cicadélido *Dalbulus maidis* en forma persistente con un periodo de incubación en el insecto de 22 a 24 días, siendo propagativo en el insecto; el virus tiene un punto termal de inactivación de 60 a 65°C y una longevidad In vitro de 3 a 4 días a 20°C y de 4 a 5 días a 3°C y las partículas del virus son isométricas de 30 nm de diámetro perteneciente al género Marafivirus.¹⁴

¹¹ MORALES, Francisco. Las enfermedades virales del maíz en América del Sur. Reunión de coordinadores de programas de maíz en Sur América. Cali : s.n., 1996. p.22.

¹² DE LEON, Carlos y MORALES, Francisco. Determinación y efecto de enfermedades virales en maíz en América del Sur: XXXXIII reunión. Panama : PCCMCA, 1997. p. 28.

¹³ DOMINGUEZ, J y CARDENAS, A. El virus del rayado fino: su efecto en el maíz criollo a distintas épocas de infección. En: Chapingo, Vol. 10, No. 47-49, (1985); p.102.

¹⁴ MARTÍNEZ LÓPEZ, Gerardo *et al.* Una nueva enfermedad del maíz en Colombia transmitida por el saltahoja *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott). En: Fitopatología. Vol. 9 (Oct., 1974); p. 94

Varon Y Martínez, manifiestan que. “En estudios serológicos indican que la mayor concentración del virus se encuentra en hojas sintomáticas y sus entrenudos correspondientes produciendo pecas cloróticas a lo largo de las nervaduras que se fusionan formando rayas cloróticas”.¹⁵

1.2.5 Virus del Bandeado del Maíz (MStpV). “El virus no se transmite mecánicamente ni por semilla pero si por el delfácido *Peregrinus maidis* durante todo su ciclo de vida y en forma transovárica, siendo capaz de adquirir y transmitir la enfermedad entre 8 y 21 días después de la inoculación”¹⁶

Martínez y Varón de Agudelo concuerdan en que:

Los síntomas se caracterizan por la presencia de pequeñas rayas cloróticas en la base de las hojas jóvenes que se unen y llegan a formar rayas gruesas a medida que la planta crece; en plantas jóvenes se presenta acortamiento de entrenudos, marcado enanismo, pérdida de vigor y doblamiento del cogollo produciendo muerte prematura de plantas y las que sobreviven no llegan a producir mazorca.¹⁷

1.2.6. Virus del Rayado del Maíz (MSV). “El virus se transmite por cinco especies de salta hojas del género *Cicadulina* siendo el más importante *C. mbila*. Las partículas del virus son isométricas con 20 nm de diámetro y frecuentemente ocurre en pares que miden 20 x 30 nm”¹⁸

En cuanto a la sintomatología presentada Shurtleff afirma que:

Estos consisten en manchas pequeñas redondas y aisladas que se presentan en las hojas más jóvenes aumentando con el crecimiento de la planta, la infección en hojas desarrolladas muestra una clorosis con rayas discontinuas amarillas a lo largo de las nervaduras reduciendo la distancia de los entrenudos del tallo y tamaño de la hoja drásticamente produciendo mazorcas pobremente llenas o vanas¹⁹.

¹⁵ RICO DE CUJIA, L. Relación entre la presencia de síntomas y la concentración del virus del Rayado colombiano del maíz en plantas afectadas. En: Fitopatología Colombiana. Vol. 1 (Jun., 1980); p.19.

¹⁶ VARON DE AGUDELO, Francia. y MARTNEZ, Gerardo. La raya gruesa del maíz: Un rhabdovirus transmitido por *Peregrinus maidis*. En : CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN COLOMBIANA DE FITOPATOLOGUIA ASCOLFI. (5º : 1982 : Cali). Ponencias del V congreso de la Asociación Colombiana de Fitopatología ASCOLFI. Cali : ASCOLFI, 1982. p.3.

¹⁷ MARTINEZ, Gerardo y VARON DE AGUDELO, Francia. Op.cit., p. 72.

¹⁸ SHURTLEFF, Malcolm. Compendium of corn diseases. New York : The American Phytopathological Society, 1992. p.65

¹⁹ Ibid. p. 66.

1.2.7 Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar (SCMV). Morales manifiesta que:

El virus puede ser transmitido mecánicamente, por semilla y por insectos de las especies *Rhopalosiphum maidis*, *Myzus persicae* y *Aphis gossypii* con un periodo de incubación en la planta de 4 a 12 días transmitiendo el virus inmediatamente después de la alimentación; tiene una Longevidad In vitro entre 2 y 4 días, un Punto termal de inactivación de 60°C y un Punto final de dilución que oscila entre 10^{-2} y 10^{-4} las partículas son de forma filamentosas flexuosas tienen un tamaño 760 nm de largo y 12 a 13 nm de diámetro²⁰

Varón de Agudelo dice que :

La enfermedad se manifiesta con la presencia de un leve moteado con diferentes tonalidades que progresan a manchas color verde intenso alternado con áreas blanquecinas, también se presentan estrías paralelas a la nervadura central de color amarillo, la infección no afecta aparentemente la altura de la planta, pero la producción de grano se llega a reducir en forma significativa.

Se han encontrado malezas hospedantes del virus tales como *Echinochloa colonum*, *Rottboellia exaltata*, *Sorghum vulgare* y *S. halepense*, las cuales, junto con la caña de azúcar, son las principales fuentes de inóculo y diseminación hacia el maíz²¹.

1.2.8 Virus del Moteado Clorótico del Maíz (MCMV)

En cuanto a las propiedades del virus Cordoba et al expresan que:

El virus tiene forma isométrica y 30 nm de diámetro, se transmite mecánicamente, por semilla y por varios Chrysomelidos como *Chaetocnema pulicaria* y *Diabrotica sp* con un período de adquisición de 24 horas y de retención de 3 a 5 días; posee un punto de inactivación térmica entre 75-80°C, punto final de dilución 10^{-5} a 10^{-8} y longevidad In vitro de 31 días a temperatura de 20°C²²

²⁰ MORALES, Francisco. Op.cit., p. 201

²¹ VARON DE AGUDELO, Francia. Op.cit., p. 28-29

²² CORDOBA, Carlos *et al.* Situación fitosanitaria del maíz (*Zea mays* L) en el Valle del Cauca. En : Fitopatología Colombiana. Vol. 23, No.1 (Jun, 1999); p. 36

Córdoba, et al., manifiestan que:

Los síntomas inician en la planta con la aparición de puntos cloróticos en la base de la hoja, los cuales se unen hasta formar rayas pequeñas que dan lugar a un mosaico que se distribuye regularmente en toda la hoja; los mosaicos dan lugar a puntos necróticos, principalmente en los bordes de las hojas y avanzan hacia el centro, existe enanismo debido al acortamiento de entrenudos, endurecimiento de la espiga y deformación de mazorcas que carecen de granos²³.

1.2.9 Virus del Enanismo Clorótico del Maíz (MCDV) Shurtleff indica que:

“El virus tiene forma isométrica, con 31 nm de diámetro, se transmite por el salta hojas *Graminella nigrifrons* y *G. sonora* de manera semi persistente, después de adquirir el virus en las plantas infectadas las ninfas y adultos se alimentan por 48 horas para volverse virulentos”

Los síntomas se manifiestan con pequeñas manchas cloróticas que posteriormente despliegan una clorosis general en las hojas del cogollo, las plantas quedan subdesarrolladas debido al acortamiento de entrenudos después de la floración y las hojas pueden adquirir una coloración amarilla o rojiza; algunos hospedantes incluyen al sorgo de grano, trigo, especies del género *Setaria* y principalmente el pasto Johnson²⁴.

1.3 DISTURBIOS OCASIONADOS POR FITOPLASMAS EN EL CULTIVO DE MAIZ

Respecto a las enfermedades asociadas con virus, Bascopé expresa que

Muchas de éstas, que en el pasado se suponía eran producidas por éstos patógenos, hoy resultan ser causadas por organismos llamados fitoplasmas, descritos como cuerpos pleomórficos, sin pared celular, pero rodeados de una membrana, su diámetro varía mucho y están formados por un enrejado de hebras de ADN y áreas con gránulos semejantes a ribosomas. Estos organismos se propagan por fisión binaria, gemación o fragmentación y son los procariontes más pequeños capaces de replicarse en forma autónoma²⁵.

²³ Ibid., p.37

²⁴ SHURTLEFF, Malcolm, Op.cit., p. 63

²⁵ BASCOPÉ, Benigno. Bacterias y fitoplasmas. En: I Curso Internacional Sobre Diagnóstico y Enfermedades en Maíz. Cochabamba : CIMMYT, 1997. p.43

“En el maíz, el Achaparramiento es el disturbio más importante que se pueda atribuir a fitoplasmas, diferenciándose dos agentes causales: el tipo "M" y el tipo "S" ”²⁶

1.3.1 Achaparramiento tipo "M" o Enanismo arbustivo del maíz. Varón de Agudelo señala que: “los síntomas presentan una clorosis de las hojas jóvenes que avanzan a una tonalidad rojiza o púrpura; además se observa un macollamiento excesivo de las plantas y disminución de tamaño manifestada por el acortamiento de entrenudos y una drástica reducción del sistema radical, además de la producción de mazorcas estériles”²⁷

1.3.2 Achaparramiento tipo "S" o Achaparramiento del maíz. Según SANINET:

El disturbio se atribuye al *Spiroplasma kunkelii* y se caracteriza por formación de áreas cloróticas en la base de las hojas, para después formar bandas amarillas al cual le sigue un enrojecimiento de los márgenes, y posteriormente se extiende a la vena principal, también existe enanismo por el acortamiento de entrenudos y mazorcas estériles así como una ramificación excesiva de las raíces²⁸.

Castillo afirma que: “En los dos tipos, los síntomas se manifiestan desde los 40 a 45 días después de la germinación de la plántula con mayor incidencia y severidad en la etapa de floración”²⁹.

De León, citado por Zúñiga, manifiesta que: “Los dos tipos de achaparramiento no se transmiten mecánicamente pero si por insectos vectores como *Dalbulus maidis*, *D. elimatus* y *Graminella nigrifrons*, en tanto que el tipo S puede ser transmitido también por *Exitianus exitiosus* y *Stirellus bicolor* con un período de adquisición por los vectores de 72 horas y uno de incubación de 14 a 21 días”³⁰.

²⁶ Ibid., p .45

²⁷ VARON DE AGUDELO, Francia *et al.* Achaparramiento del maíz *Zea mays* L. en el Valle del Cauca. En: Fitopatología Colombiana, Vol. 25, No. 2 (Jul, 2001); p. 86.

²⁸ SANINET. Achaparramiento del maíz. [en línea] s.f. [citado 23 nov., 2004]. Disponible en Internet : <URL : <http://www.iicasaninet.net>>.

²⁹ CASTILLO, Germán. Estudios biológicos del achaparramiento del maíz en el Valle del Cauca. En : CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN COLOMBIANA DE FITOPATOLOGIA ASCOLFI. (6º : 1999 : Manizales). Memorias del VI Congreso de la Asociación colombiana de Fitopatología ASCOLFI. Manizales : ASCOLFI, 1999. p. 15.

³⁰ ZUÑIGA, Boris. Estudio de la relación hongo - virus en la presencia del amarillamiento del maíz *Zea mays* L en el Valle de Sibundoy. Pasto, 1991, 15 p. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo). Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas .

1.4 IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LOS VIRUS EN EL CULTIVO DE MAIZ

Respecto a las pérdidas ocasionadas por enfermedades virales Matthews manifiesta que: “es difícil cuantificarlas pues éstas varían de acuerdo con la incidencia y severidad de la enfermedad, la localidad, la variedad sembrada, las razas del virus, la actividad de vectores, la relación entre la infección y el estado fenológico y nutricional del cultivo así como las condiciones ambientales y la presencia de otros parásitos”³¹.

Domínguez y Cárdenas afirman que: “En el cultivo del maíz las pérdidas ocasionadas por virus no solo radican en la disminución de los rendimientos sino también en la muerte de plantas pues éstas son afectadas en los primeros estados de desarrollo y aquellas que sobreviven generalmente no alcanzan a formar mazorca”³².

En cuanto a la determinación de las pérdidas causadas por virus en el cultivo de maíz Varón de Agudelo y Martínez aseguran que: “han hecho estudios en diferentes materiales con plantas que presentan los síntomas típicos de cada virus y plantas aparentemente sanas durante todo el periodo vegetativo; dichas pérdidas pueden variar aproximadamente entre un 50 a un 90%”³³

1.5 METODOS DE INVESTIGACION EN VIROLOGIA VEGETAL

1.5.1 Transmisión mecánica. Según Lawson:

El procedimiento consiste en obtener tejidos sintomáticos de plantas y hacer una maceración en un mortero previamente refrigerado y en presencia de una sustancia tampón, como fosfato de potasio, Boratos, pvp o pvpv en proporción 1:1 (V/V), se prueban diferentes valores de pH de la solución tampón desde 7, subiendo en décimas hasta 8; de igual forma concentraciones molares desde 0,05 M hasta 0,1M para buscar el punto óptimo de eficiencia de transmisión

“Una vez obtenido el jugo se inocula en las hojas de las plantas que se quiere transmitir el virus, las cuales deben ser asperjadas con un abrasivo para causar laceraciones y permitir que el virus infecte. Una vez inoculadas las hojas, se lavan y se marcan con cinta para posteriores evaluaciones”³⁴

³¹ MATTHEWS, G. Plant Virology. New Cork : Academia, 1991. p. 603.

³² DOMINGUEZ, J. y CARDENAS, A. Op.cit., p. 101-102

³³ VARON DE AGUDELO, Francia. y MARTNEZ, Gerardo. Op.cit., p.1.

³⁴ LAWSON, Roger. Transmission of plant viruses : Loebenstein, Gad; LAWSON, Roger y BRUNT, Alan. Virus and virus-like diseases of bulb and flower crops. New York : John Wiley and sons, 1995. p. 117

1.5.2 Transmisión por insectos. Matthews afirma que: “En lotes donde se presenta el problema se recolectan diferentes especies de insectos asociados con el cultivo en estudio, los insectos se colectan de plantas sintomáticas, se capturan con un aspirador de plástico y se transportan a un sitio seguro”³⁵.

Para las pruebas de transmisión Matthews manifiesta que:

Una vez obtenidas las colonias libres de virus se toman diferentes grupos de individuos y se pueden dejar en períodos de ayuno si se trata de virus no persistente o semi persistentes, para aumentar la eficiencia de transmisión, previos a la adquisición; se pueden probar tiempos de adquisición sobre las plantas enfermas; luego con un pincel de punta fina se llevan los insectos a las plantas sanas que se quiere probar, se pueden emplear diferentes tiempos de inoculación dependiendo del tipo de relación del insecto y el virus. Enseguida los insectos se eliminan con un insecticida para posteriormente hacer las evaluaciones correspondientes³⁶.

1.5.3 Transmisión por semilla. De igual forma, Matthews afirma que

Se deben cosechar frutos de plantas sintomáticas, para extraer las semillas cuidadosamente y sembrarlas en bolsas plásticas, con suelo esterilizado, para mantener plantas en invernadero durante dos meses. Se realizan evaluaciones semanales para mirar si hay aparición de síntomas, además se tienen en cuenta las medidas necesarias para mantener el lugar libre de insectos vectores de virus, también las plantas se deben fertilizar para evitar confundir los síntomas con alguna deficiencia nutricional³⁷.

1.6 PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS DE LOS VIRUS

1.6.1 Punto final de dilución (PFD). Dijkstra y De Jager afirman que: “Es la dilución más alta de savia de un virus infectado en una planta que todavía es infecciosa, normalmente se da como el rango entre esta dilución y la próxima en que la infectividad se pierde. El agua es un diluyente recomendado y la dilución se realiza comúnmente en escala logarítmica 1/1, 1/10, 1/100..hasta 1/10.000.000 y cada dilución deberá ser frotada sobre igual número de plantas”³⁸.

³⁵ MATTHEWS, R., Op. Cit. p. 525

³⁶ Ibid, p. 465.

³⁷ Ibid, p. 339.

³⁸ DIJKSTRA, Jeanne y DE JAGER, Cess. Practical plant virology. New York : Pro Edit, 1998. p.100.

1.6.2 Longevidad In vitro (LIV). “Es el tiempo durante el cual el virus conserva su poder infectivo fuera de las células a temperatura ambiente ó a 4 grados centígrados. Las pruebas para establecer la longevidad In vitro se practican generalmente con savia recién extraída y almacenada en envases taponados”³⁹

1.6.3 Punto termal de inactivación (PTI). Para Dijkstra y De Jager

Es la temperatura requerida para la completa inactivación del virus que se halla presente en jugo crudo no tratado y es expuesto durante diez minutos; aún en concentraciones altas del virus, el pH y la presencia de otros materiales pueden afectar el punto termal de inactivación, las cualidades físicas y químicas del virus son las que deciden fundamentalmente su resistencia a temperaturas altas, se pueden emplear temperaturas de 5 ó 10 grados centígrados, pero la segunda vez se puede emplear intervalos de 2° C.⁴⁰

³⁹ Ibid, p. 100.

⁴⁰ Ibid, p. 100

2. DISEÑO METODOLOGICO

2.1 LOCALIZACIÓN

La investigación se realizó bajo condiciones de invernadero en la Universidad de Nariño – Torobajo, (Pasto, Nariño) ubicado a 2454 msnm, con temperatura promedio de 16°C así como en el laboratorio de entomología, además, se contó con la colaboración del Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT (Palmira-Valle), Unidad de Virología.

2.2 FUENTE DE INÓCULO

En la vereda San Germán, municipio de Guaitarilla, departamento de Nariño, se identificaron plantas de maíz con síntomas como moteados leves en la base de hojas jóvenes, bandas cloróticas irregulares paralelas a las nervaduras y manchas cloróticas (Figura 1).

De ellas, se tomaron muestras foliares que fueron recubiertas con papel toalla y colocadas en bolsas de aluminio para ser llevadas al invernadero de la Universidad de Nariño y utilizadas en las pruebas de transmisión.

2.3 PROCESAMIENTO ESTADISTICO

Teniendo en cuenta que el trabajo determinó la etiología de una enfermedad, los resultados se presentan como porcentajes y en el caso de las propiedades físico-químicas se efectuaron análisis de varianza así como pruebas de correlación y regresiones lineales.

2.4 TRANSMISIÓN MECÁNICA

Siguiendo la metodología descrita por Lawson

Se seleccionaron hojas tiernas de plantas de maíz con síntomas del disturbio para dividir las en pequeños pedazos y macerarlos en un mortero de porcelana adicionando agua esterilizada en proporción 1:1 (p/v) a fin de obtener savia la cual fue frotada suavemente sobre la superficie de las hojas de 50 plantas jóvenes de maíz previamente espolvoreadas con carborundum de 600 mallas⁴¹.

Se conformó un testigo con otras 50 plantas las cuales fueron espolvoreadas con el abrasivo y frotadas sólo con agua, enseguida se hizo un lavado de los tejidos

⁴¹ LAWSON, Roger., Op. Cit. p.117

inoculados atomizando las plantas con agua corriente y se determinaron los días de la aparición de los primeros síntomas, así como el número de plantas afectadas y una descripción de la sintomatología presentada.

Figura 1. Síntomas registrados en plantas de maíz, en condiciones de campo, cultivos localizados en el municipio de Guaitarilla y la vereda San Germán, a) Punteado clorótico en la base de las hojas. b) Bandeado clorótico desuniforme paralelo a las nervaduras c) Planta enana por acortamiento de entrenudos; d) Plantas con estado avanzado de la enfermedad.



a



b



c



d

2.5 MULTIPLICACION DE HOSPEDANTES ALTERNOS Y PLANTAS INDICADORAS

En condiciones de invernadero se sembraron plantas de Trigo (*Triticum vulgare*), Cebada (*Hordeum vulgare*), Triticale (*Triticum secale*), Avena (*Avena sativa*), Raigrass Aubade (*Lolium multiflorum*), Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*), Jurillo (*Paspalum hirtum*) Pasto brasilero (*Phalaris* sp.) y maicillo (*Paspalum prostratum*) y de igual forma, plantas indicadoras de virus tales como Tabaco (*Nicotiana tabacum*), Frijol (*Phaseolus vulgaris*) Quinoa (*Chenopodium quinoa*), Pepino (*Cucumis sativum*) y Tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum*) en número de 45 por especie.

Estas plantas se multiplicaron por semilla sexual y asexual, según la especie, en materos y bolsas de 2 Kg con suelo en proporción de 3 -1 de tierra y arena y fueron conservadas en invernadero antes y después de la inoculación fertilizándolas con 2 gramos de un abono compuesto balanceado (12-12-17-2) y riego diario.

Veinte días después de la germinación se inocularon en forma mecánica con savia recién extraída de plantas de maíz infectadas, dejando 10 plantas como testigo por cada especie, las cuales se inocularon con agua destilada.

Se hicieron observaciones cada dos días durante dos meses a fin de identificar cual (es) de ellas expresaban síntomas relacionados disturbio así como el número de plantas afectadas y el tiempo de aparición de los primeros síntomas.

2.6 DETERMINACION DE LAS PROPIEDADES FÍSICO – QUÍMICAS DEL IRUS

Una vez comprobada la transmisión mecánica se procedió a determinar el punto final de dilución, la longevidad in vitro y el punto termal de inactivación, siguiendo la metodología de Dijkstra y De Jager, descrita a continuación:

2.6.1 Longevidad in vitro (LIV). Se extrajo savia de tejidos foliares de plantas de maíz con síntomas iniciales, llevando a tubos de ensayo limpios en un volumen de 10 ml por tratamiento, los cuales se taparon con papel aluminio y se mantuvieron en condiciones de laboratorio. Se hizo transmisión después de 0, 10, 20, 30, 40 y 50 días de extraída la savia mediante transmisión mecánica con 30 plantas sanas y jóvenes de maíz por tiempo de almacenamiento. Al obtener el rango de días de aparición de síntomas se trabajó con intervalos de un día de almacenamiento de savia contaminada para determinar el tiempo exacto de actividad del virus fuera de una célula viva.

2.6.2 Punto final de dilución (PFD). Se tomaron 10 ml de savia infectada y se inocularon mecánicamente las plantas conformando la dilución 10^0 ; de ésta, se tomó un ml y se diluyó en 9 ml. de agua

formando la dilución 10^{-1} , de aquí se tomó un ml y se diluyó en 9 ml. de agua obteniendo la dilución 10^{-2} y se hicieron nuevas diluciones en forma sucesiva hasta llegar a la dilución 10^{-8} , inoculando 30 plantas jóvenes y sanas de maíz por dilución determinando el tiempo de aparición de síntomas y el número de plantas enfermas.

2.6.3 Punto termal de inactivación (PTI). Se tomaron tubos de ensayo con 10 ml de savia extraída de plantas enfermas, se calentaron en baño maría durante diez minutos a 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, y 80°C enfriando rápidamente con agua corriente para hacer la transmisión mecánica en 10 plantas jóvenes y sanas de maíz por temperatura. Al obtener las temperaturas a las cuales se presentan los síntomas y a la cual se pierden posteriormente, se trabajó con rangos de 1°C con 30 plantas por grado de temperatura determinando el número de plantas enfermas, el tiempo de aparición de síntomas y en forma exacta, la temperatura a la cual el virus se inactiva.⁴²

2.7 TRANSMISIÓN POR INSECTOS

Bustillo y Sánchez “Los áfidos son hasta el presente el grupo de artrópodos más importantes en la transmisión de virus patógenicos a plantas, se estima que entre un 80-90% de las virosis vegetales son transmitidas por estos insectos”⁴³.

Por lo anteriormente citado y por haber sido los insectos que se encontraron en mayor cantidad al momento de inspeccionar cultivos de maíz donde se presenta el problema, se colectaron áfidos que se transportaron hacia el invernadero de la Universidad de Nariño – Torobajo para ser mantenidos en plantas sanas de maíz.

Con el fin de obtener colonias libres de virus los insectos fueron cuidadosamente retirados de las plantas con ayuda de un pincel fino y colocados en cajas de Petri con un trozo de hoja de maíz sana sobre papel filtro humedecido. En cuanto hubo crías, los insectos iniciales fueron retirados de las cajas de petri y se conservaron los individuos recién paridos a partir de los cuales se obtuvieron áfidos en cantidades suficientes.

Para las pruebas de transmisión se siguió la metodología descrita por Matthews según la cual:

Se tomaron grupos de 1, 3, 5 y 10 individuos que se dejaron en cajas Petri con papel toalla humedecido con el fin de que cumplieran un período de ayuno de 20 minutos, anterior a la adquisición del virus.

⁴² DIJKSTRA y DE JAGER, Op.cit. p. 100 – 101

⁴³ BUSTILLO, Alex y SANCHEZ, Guillermo. Los áfidos en Colombia, plagas que afectan los cultivos agrícolas de importancia económica. Bogotá : ICA-Colciencias, 1981, p. 1.

Después, los insectos se trasladaron con un pincel de punta fina hacia las plantas enfermas y una vez se apreciaba la inserción del estilete en el tejido se probaron tiempos de adquisición de uno, tres y cinco minutos⁴⁴.

Enseguida se realizaron las pruebas de transmisión colocando los áfidos al alcance de plantas jóvenes y sanas de maíz morocho amarillo con 36 plantas por cada uno de los siguientes tratamientos: un insecto, tres insectos, cinco insectos y diez insectos.

2.8 IDENTIFICACION DEL VECTOR

Una vez obtenida la transmisión por áfidos se realizó la identificación del vector en el Laboratorio de Entomología de la Universidad de Nariño; con la ayuda de un estereoscopio y utilizando un medio Hoyers para la fijación de áfidos, se reconocieron individuos ápteros teniendo en cuenta las claves descritas por Bustillo y Sánchez⁴⁵.

2.9 TRANSMISIÓN POR SEMILLA

En lotes de maíz donde se presenta el disturbio se marcaron plantas sintomáticas de las cuales se colectaron mazorcas, las cuales fueron secadas en un lugar abierto y ventilado.

De las mazorcas obtenidas se desgranaron y seleccionaron 80 semillas las cuales fueron sembradas en bolsas plásticas de 2 Kg y se hicieron observaciones cada dos días durante un periodo de dos meses después de la germinación para ver si se presentaban síntomas así como el tiempo de aparición y el número de plantas que los llegaron a manifestar.

Las plantas se mantuvieron teniendo en cuenta las precauciones necesarias para evitar inoculaciones accidentales y fueron fertilizadas con un abono compuesto balanceado (12-12-17-2) a razón de tres gramos por planta y regadas periódicamente.

La incidencia en pruebas de transmisión y propiedades físico - químicas se determinó mediante la siguiente fórmula:

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

⁴⁴ MATTHEWS, R. Op.cit. p. 339

⁴⁵ BUSTILLO, Alex y SANCHEZ, Guillermo. Op.cit. p. 78

2.10 PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

Luego de la transmisión del virus a las plantas potenciales indicadoras y, para completar las pruebas de patogenicidad, se tomaron plantas sintomáticas de maíz y trigo y se repitió la transmisión mecánica nuevamente hacia plantas jóvenes y sanas de maíz en número de 35 para verificar que se trataba del mismo patógeno.

2.11 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

Muestras de tejidos sintomáticos procedentes de plantas de maíz se enviaron al Centro Internacional de Agricultura Tropical, (CIAT) Palmira, para determinar la presencia, forma y tamaño de las partículas del virus, mediante observación al microscopio electrónico, con la técnica de tinción negativa.

3. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

3.1 TRANSMISION MECANICA Y RANGO DE HOSPEDANTES

Los síntomas de la enfermedad se mostraron en forma sistémica inicialmente en las hojas jóvenes de plantas de maíz hasta obtener una distribución generalizada, en todas las hojas manifestando un moteado suave que termina cubriendo la totalidad del área foliar progresando a bandas cloróticas gruesas e irregulares paralelas a las nervaduras de las hojas que surgen desde la base hasta el ápice llegando a producir necrosis así como acortamiento de entrenudos no presente en todas las plantas sintomáticas (Figura 2).

En pruebas de transmisión mecánica de maíz a maíz el macerado no se hizo en presencia de alguna sustancia tampón obteniendo una eficiencia siempre superior al 78% (Cuadro 1); el período de incubación del virus fue de 11 a 15 días, encontrándose síntomas iniciales tales como pequeños puntos cloróticos en la base de hojas nuevas con visible detención en el crecimiento

Cuadro 1. Eficiencia de la transmisión mecánica del virus en diferentes especies de plantas

Especie	Plantas inoculadas	Plantas afectadas (+) (-)	Eficiencia de transmisión (%)
Maíz	50	39/11	78,00
Trigo	35	9/26	25,71
Maicillo	35	0/35	0,0
Cebada	35	0/35	0,0
Avena	35	0/35	0,0
Triticale	35	0/35	0,0
Aubade	35	0/35	0,0
Pasto brasilero	35	0/35	0,0
Jurillo	35	0/35	0,0
Kikuyo	35	0/35	0,0
Tabaco	35	0/35	0,0
Frijol	35	0/35	0,0
Tomate de mesa	35	0/35	0,0
Quinua	35	0/35	0,0
Pepino	35	0/35	0,0

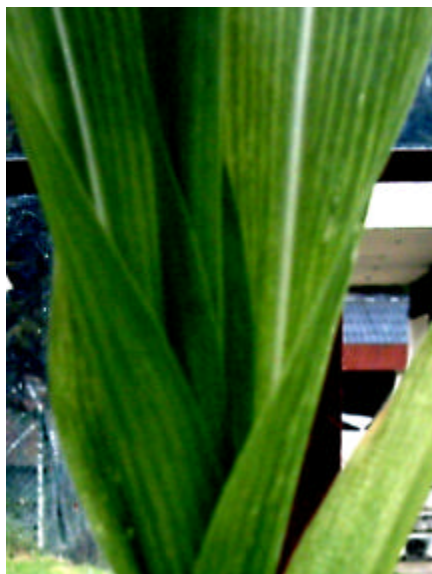
Figura 2. Síntomas presentados en plantas de maíz, bajo condiciones de invernadero por medio de transmisión mecánica. a) Moteado clorótico en la base de las hojas b) Hojas con manchas cloróticas en estado avanzado. c) Bandeado irregular paralelo a las nervaduras de la hoja; d) Detención en el crecimiento evidenciado por el acortamiento de entrenudos.



a



b



c



d

Debido a la alta eficiencia obtenida en las primeras pruebas de transmisión en ausencia de sustancias tampón se decidió no utilizarlas para las posteriores pruebas de transmisión debido a que éstas son utilizadas cuando la eficiencia de transmisión es muy baja.

Cabe anotar que en Colombia el Virus del Moteado Clorótico (MCMV), así como el Virus del Mosaico Enanizante (MCMV) y el Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar (SCMV) son las únicas enfermedades de etiología viral en maíz cuya transmisión es posible en forma mecánica, sin embargo, la sintomatología manifestada por los anteriores disturbios difiere consistentemente del virus en estudio en virtud de que:

Este presenta un bandeado mucho más ancho y prolongado que el producido por el Virus del Moteado Clorótico del Maíz, en el cual según Córdoba, et al. "Sólo se forman rayas cloróticas cortas que no necesariamente se crean desde la base de las hojas y dan lugar a mosaicos que no necrozan la lámina foliar uniformemente"⁴⁶.

Es característica principal del virus estudiado, la presencia de bandas cloróticas anchas que se elongan desde la base hasta el ápice de las hojas y un acortamiento de entrenudos medianamente agresivo que no se presenta en todas las plantas afectadas, situaciones que no ocurren con el Virus del Mosaico Enanizante del Maíz donde según Morales "es característica principal la violenta detención en el crecimiento y la presencia de anillos color verde oscuro en las hojas"⁴⁷.

El virus en estudio presenta distintos niveles de detención en el crecimiento de algunas plantas afectadas a diferencia del Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar donde según Varón de Agudelo⁵⁰ "El crecimiento de la planta no se ve afectado, pero además de la presencia de deformaciones y estrías color amarillo paralelas a las nervaduras"⁴⁸.

La alta eficiencia en la transmisión mecánica del virus permite destacar la necesidad de capacitar a los productores locales en la detección temprana del disturbio a fin de reducir la cantidad de inóculo al interior de los lotes por medio del raleo de plantas sintomáticas ya que en la mayoría de localidades dentro del área de investigación se acostumbra sembrar en número de dos a tres semillas por sitio y el continuo rozamiento entre plantas podría producir pérdidas en la producción de todas las plantas de un sitio.

⁴⁶ CORDOBA, Carlos, et al. Op.cit. p.36

⁴⁷ MORALES, Francisco. Op.cit. p.22.

⁴⁸ VARON DE AGUDELO, Francia. Op.cit. p. 28

3.2 HOSPEDANTES ALTERNOS Y PLANTAS INDICADORAS

El virus registrado en maíz es de fácil transmisión mecánica y, en pruebas de transmisión de maíz a trigo, la eficiencia fue del 25.71% (Cuadro 1), el período de incubación fue de 21 días mientras que en las demás especies probadas como el tabaco, frijol, pepino, tomate de mesa, quinua, avena, triticale, aubade, cebada, maicillo, jurillo y kikuyo no se presentaron síntomas.

El trigo presentó síntomas como un leve moteado con puntos cloróticos en la gran mayoría de las hojas (Figura 3), o sea que, el trigo puede utilizarse como planta indicadora del virus o como planta de diagnóstico, además se puede tener en cuenta para la multiplicación y conservación del mismo.

Respecto a la especificidad en los hospedantes de un virus, Matthews, citado por Garavito asegura que “En la naturaleza se da una restricción en los posibles hospederos de un virus estableciendo un rango definido y en ocasiones reducido ya que las plantas frente a un virus pueden ser inmunes o no hospederas por la ausencia o incompatibilidad de los factores necesarios para llevar a cabo el ciclo viral, o bien, pueden actuar activamente para eliminar o contrarrestar el patógeno”⁴⁹

El trigo puede ser considerado como una fuente de inóculo y señala la importancia de eliminar plantas espontáneas de trigo en siembras de maíz

Respecto al control de malezas en el cultivo de maíz Ospina

Recomienda en forma manual, realizar dos desyerbas, la primera entre 20 y 30 días y la segunda, entre 50 y 60 días después de la siembra o en forma química, en post-emergencia entre 15 y 20 días mediante la aplicación, preferiblemente, de herbicidas sistémicos selectivos o no selectivos que se pueden dirigir o no, dependiendo del modo de acción, sean, graminicidas o para hoja ancha”⁵⁰.

La Universidad de Idaho⁵³ en su portal de virología vegetal destaca al trigo como:

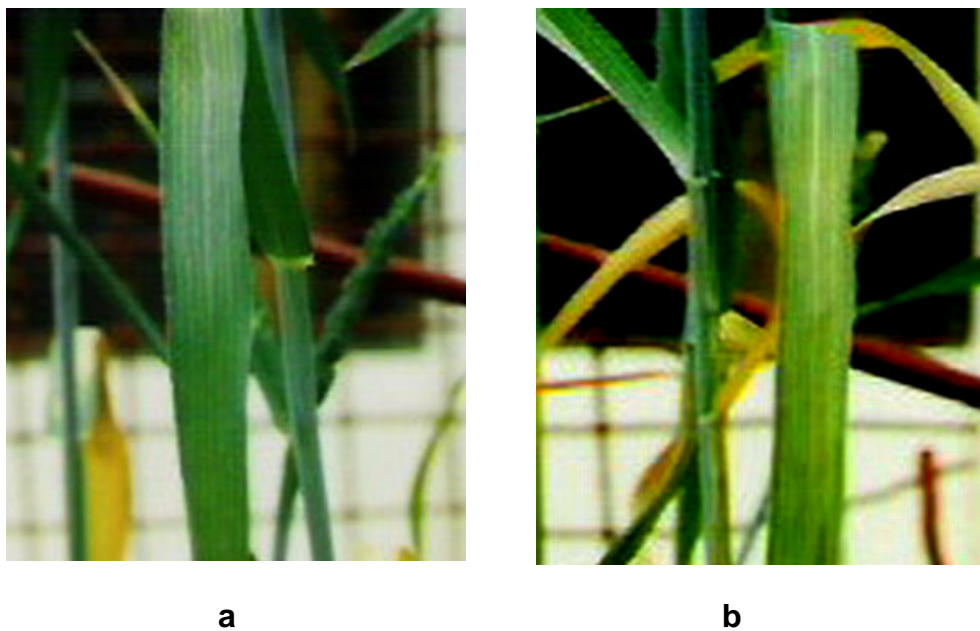
Alternos, principalmente, del Virus del Rayado del Maíz (MSV), el Virus del Mosaico Común del maíz (MMV), el Virus del Enanismo Clorótico del Maíz (MCDV) y el Virus del Moteado Clorótico del Maíz (MCMV) donde sólo los dos últimos presentan una sintomatología similar a la del virus

⁴⁹ GARAVITO, Andrea. Cómo se defienden las plantas frente a los virus: interacciones y mecanismos moleculares. En: CONGRESO ASCOLFI NUEVAS TENDENCIAS EN FITOPATOLOGÍA. (23º : 2002 : Bogotá). Ponencias del XXIII Congreso ASCOLFI Nuevas Tendencias en Fitopatología. Bogotá : Panamericana, 2002. p.117

⁵⁰ OSPINA, José. Op.cit., 153-154 p.

en estudio, manifestando puntos cloróticos difusos en la base y zonas intermedias de las hojas hasta producir una necrosis foliar generalizada, en pruebas de transmisión maíz-trigo⁵¹.

Figura 3. Síntomas registrados en invernadero en plantas de trigo a partir de transmisión mecánica. a) presencia de puntos cloróticos las hojas; b) planta con necrosis foliar



3.3 PROPIEDADES FISICO – QUIMICAS

Las propiedades físico – químicas del virus fueron determinadas en condiciones de invernadero, utilizando semilla de maíz procedente de lotes situados en el área de investigación.

El virus presentó una longevidad in vitro de 29 días (Cuadro 2), un punto termal de inactivación de 75°C (Cuadro 3) y un punto final de dilución entre las concentraciones 10^{-4} y 10^{-5} (Cuadro 4) condiciones bajo las cuales, el virus dejó de ser infectivo en las plantas inoculadas, ajustándose a un modelo de regresión lineal (Figura 4),. Los individuos que para cada tratamiento arrojaron resultados positivos presentaron la misma sintomatología a la ya descrita en anteriores pruebas de transmisión

⁵¹ UNIVERSITY OF IDAHO. Op.cit., p. 13

Cuadro 2. Longevidad In vitro del virus en maíz

TIEMPO (DIAS)	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS (+) (-)	EFICIENCIA DE LA TRANSMISION (%)
0 (Testigo)	30	24/6	80,00
10	30	22/8	73,33
20	30	13/17	43,33
21	30	11/19	36,66
22	30	9/21	30,00
23	30	9/21	30,00
24	30	8/22	26,66
25	30	8/22	26,66
26	30	5/25	16,66
27	30	2/28	6,66
28	30	2/28	6,66
29	30	0/30	0,00

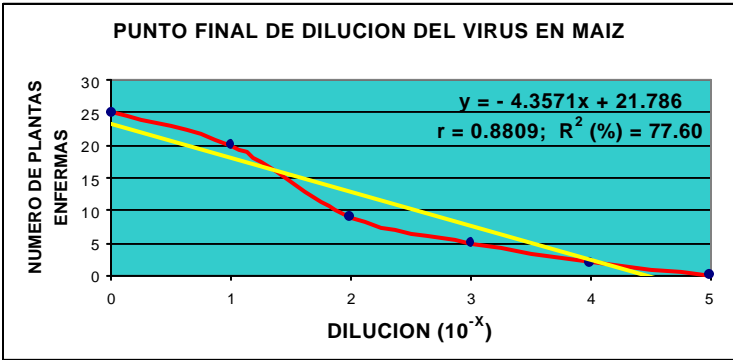
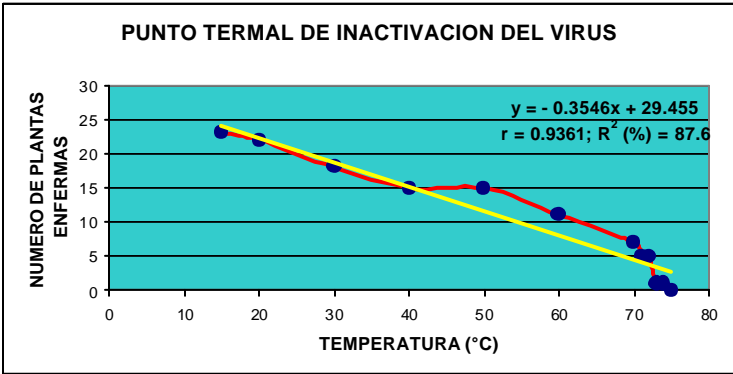
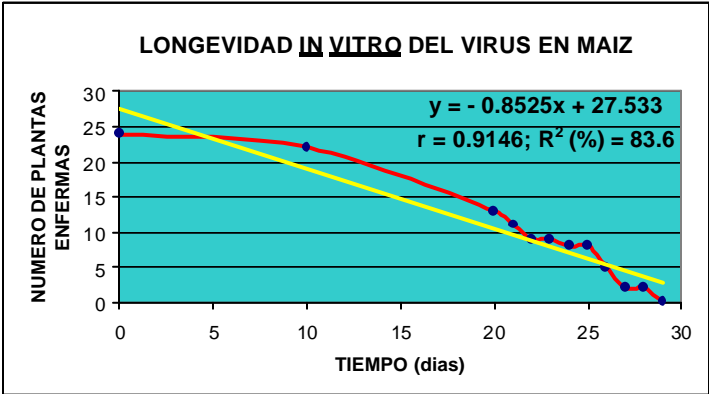
Cuadro 3. Punto termal de inactivación del virus en maíz.

TEMPERATURA (°C)	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS (+) (-)	EFICIENCIA DE TRANSMISION (%)
Testigo (15°C)	30	23/7	76,66
20	30	22/8	73,33
30	30	18/12	60
40	30	15/15	50,00
50	30	15/15	50,00
60	30	11/19	36,66
70	30	7/23	23,33
71	30	5/25	16,66
72	30	5/25	16,66
73	30	1/29	3,33
74	30	1/29	3,33
75	30	0/30	0,00

Cuadro 4. Punto final de dilución del virus en maíz

DILUCIONES	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS (+) (-)	EFICIENCIA DE TRANSMISION (%)
10 ⁰	30	25/5	83,33
10 ⁻¹	30	20/10	66,66
10 ⁻²	30	9/21	30,00
10 ⁻³	30	5/25	16,66
10 ⁻⁴	30	2/28	6,66
10 ⁻⁵	30	0/30	0,00

Figura 4. Curvas de la Longevidad In Vitro, Punto termal de inactivación y Punto final de dilución



Teniendo en cuenta que los valores en cada una de las propiedades físico-químicas se ajustaron a un modelo de regresión lineal simple, donde se comprobó la dependencia entre las variables se estableció que:

Para el caso de la Longividad In vitro el coeficiente de relación “b” de la ecuación lineal indica que por cada día de almacenamiento de la savia infectada, el número de plantas sintomáticas disminuirá 0.8525 veces mientras que el coeficiente “R” de 0.9146 mostró un alto grado de correlación entre los días de almacenamiento y el número de plantas enfermas y el coeficiente de determinación R^2 indicó que el número de plantas enfermas está explicado en un 83.6% por los días de almacenamiento de la savia infectada.

Respecto al Punto termal de inactivación, el coeficiente de relación “b” muestra que por cada grado centígrado incrementado en el calentamiento de savia infectada, el número de plantas con síntomas disminuirá 0.3546 veces; el coeficiente “R” de 0.9361 mostró un alto grado de correlación entre el incremento de la temperatura de la savia, en grados centígrados, y el número de plantas enfermas y el coeficiente de determinación R^2 indicó que el número de plantas enfermas está explicado en un 87.6% por incremento en la temperatura de savia infectada.

Por su parte, en el Punto final de dilución el coeficiente de relación “b” indica que por cada mililitro de savia infectada que se diluya en nueve mililitros de agua, el número de plantas con síntomas se reducirá 4.3571 veces; el coeficiente “R” de 0.8809 manifestó un alto grado de correlación entre el incremento de la dilución de la savia infectada y el número de plantas con síntomas mientras que el coeficiente de determinación R^2 mostró que el número de plantas enfermas está explicado en un 77.6% por incremento en la dilución de savia infectada.

A partir de las propiedades físico-químicas del virus en estudio se ha podido establecer diferencias significativas entre éste y los virus de mayor importancia reportados en maíz, sin embargo, el estudio de estas propiedades se dificulta considerablemente cuando un virus no se transmite en forma mecánica, razón por la cual sólo se analizaron virus cuyas propiedades se encuentran reportadas.

El Virus del Mosaico Enanizante del Maíz (MDMV) así como el Virus del Rayado Fino Colombiano del Maíz (MRFV) y el Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar (SCMV) presentan un Punto final de dilución muy similar a la del virus estudiado ya que todos oscilan entre las diluciones 10^{-4} y 10^{-5} .

Los tres virus señalados poseen un Punto termal de inactivación que oscila entre 54 y 65°C y una longevidad In vitro de 2 a 4 días en tanto que el virus en estudio presenta 75°C y 29 días, en esas mismas escalas, estableciendo una diferencia mínima de 10°C y 25 días respectivamente.

Por otro lado, se presentaron semejanzas importantes entre el virus en estudio y el Virus del Moteado Clorótico del Maíz (MCMV) donde se encontró igual Punto final de dilución y Punto termal de inactivación, así como una diferencia de sólo dos días en la Longevidad In vitro, sin embargo es necesario anotar que existen diferencias significativas entre los dos virus en cuanto a la sintomatología presentada y el tipo de vector.

3.4 TRANSMISION POR INSECTOS

Hubo transmisión del virus por áfidos en forma no persistente, de maíz a maíz, expuestos a un período de ayuno de 20 minutos, con un período de adquisición de 5 minutos y uno de inoculación de 10 minutos, que fueron determinados como los mejores tiempos para lograr una mejor transmisión (Cuadro 5 y 6); se logró una eficiencia del 3.13% cuando se utilizó un áfido, de 9.38% cuando se utilizaron tres áfidos, del 12.5% cuando se utilizaron 5 áfidos y del 15.62% cuando se utilizaron 10 áfidos (Cuadro 7).

También, se hicieron los mismos tratamientos en trigo así como en posibles hospedantes alternos y plantas indicadoras donde los resultados nunca fueron positivos, lo cual puede ser atribuido a la especificidad del virus y su relación con el vector, además de la baja eficiencia de transmisión por insectos.

Los síntomas en maíz se manifestaron en las hojas jóvenes en un período de incubación de 19 y 23 días, presentándose un moteado leve y una clorosis en la base de la hoja que progresó a bandas irregulares sobre la lámina foliar acompañada de una aparente detención en el crecimiento caracterizada por el acortamiento de entrenudos que no se presentó en todas las plantas, coincidiendo con los síntomas observados en campo. (Figura 4).

La transmisión por áfidos del virus en estudio, permite diferenciar y descartar la relación existente con otros de similar sintomatología, tales como el Virus del Moteado Clorótico del Maíz (MCMV) y el Virus del Bandado del Maíz (MStpV), donde la transmisión biológica, según Morales y De León⁵² se realiza por Chrysomélidos de los géneros *Chaetenoma* y *Diabrotica*, y por Delphacidos del género *Peregrinus*, respectivamente.

La transmisión por áfidos, cuya eficiencia fue superior al 15.62% cuando se emplearon 10 insectos representa una situación de riesgo para las zonas productoras de maíz, ya que se pudo establecer la relación de éste insecto con las plantas enfermas en las localidades donde está presente el disturbio.

⁵² MORALES, Francisco y DE LEON, Carlos, Op.cit. p. 30

Cuadro 5. Transmisión del virus por áfidos del género *Rhopalosiphum* en grupos de 10 insectos, en diferentes especies de plantas con un período de inoculación de 10 minutos, un período de ayuno de 20 minutos y diferentes períodos de adquisición.

Especie	Plantas inoculadas	Plantas (+)(-)			Eficiencia de la transmisión (%)		
		Periodo de adquisición en minutos			Periodo de adquisición en minutos		
		1	3	5	1	3	5
Maíz	36	3/33	5/31	6/30	8,33	13,89	16,67
Trigo	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Cebada	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Avena	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Triticale	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Aubade	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Pasto braslero	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Jurillo	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Maicillo	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Kikuyo	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Tabaco	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Frijol	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Tomate de mesa	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Quinua	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Pepino	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0

Cuadro 6. Transmisión del virus por áfidos del género *Rhopalosiphum* en grupos de 10 insectos, en diferentes especies de plantas con un período de adquisición de 5 minutos, un período de ayuno de 20 minutos y diferentes períodos de inoculación.

Especie	plantas inoculadas	Plantas (+)(-)				Eficiencia de la transmisión (%)			
		Periodo de inoculación en minutos				Periodo de inoculación en minutos			
		1	3	5	10	1	3	5	10
Maíz	36	1/35	4/32	5/31	7/29	2.77	11,11	13.88	19.44
Trigo	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Cebada	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Avena	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Triticale	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Aubade	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Pasto brasilero	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Jurillo	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Maicillo	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Kikuyo	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Tabaco	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Frijol	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Tomate de mesa	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Quinua	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Pepino	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0

Cuadro 7. Eficiencia de transmisión del virus en maíz por áfidos del género *Rhopalosiphum* en grupos de 1, 3, 5 y 10 por planta con un período de adquisición de 5 minutos y un período de inoculación de 10 minutos y un período de ayuno de 20 minutos.

Número de áfidos	Plantas inoculadas	Plantas (+) (-)	Eficiencia de la transmisión (%)
1	32	1/31	3,13
3	32	3/29	9,38
5	32	4/28	12,50
10	32	5/27	15.62

Figura 5. Síntomas registrados en plantas de maíz bajo condiciones de invernadero a través de transmisión por insectos. a) Bandeado clorótico ascendente desde la base de las hojas; b) Planta con manchas cloróticas dispersas presentes en todas las hojas; c) Acortamiento drástico de entrenudos



a



b



c

La estrecha relación encontrada entre el insecto y su hospedante se debe tener en cuenta para estudios de epidemiología de la enfermedad, ya que la presencia de altas poblaciones de los mismos en cultivos visitados, hace que ésta sea una de las principales formas de diseminación de la enfermedad en el campo.

Por lo anteriormente expresado es necesario destacar la necesidad de que los esfuerzos para evitar la presencia o reducir la incidencia del virus en campo, se encaminen a un oportuno y eficaz control de áfidos en cultivos de maíz.

INFOAGRO explica que: “Las labores culturales que disminuyen la presencia de áfidos en un cultivo incluyen la eliminación de plantas hospedantes, la colocación de trampas cromotrópicas amarillas y la aplicación de riego por aspersión siempre que sea posible; en forma química, el control se realiza mediante la aplicación de insecticidas sistémicos o de contacto, preferiblemente acompañados de un aceite agrícola”⁵³.

Según Stoll citado por Mendoza y Mipaz “existen alternativas de manejo diferentes a las convencionales que incluyen la aplicación de aceites que impiden la respiración del insecto causando asfixia y extractos vegetales con propiedades repelentes e insecticidas útiles en sistemas de producción limpia”⁵⁴.

“Como reguladores naturales de áfidos se citan principalmente como predadores de ninfas y adultos *Colemegilla maculata* y *Cycloneda sanguinea* y como patasitoides *Lysiphlebus testaceipes* y el entomopatógeno *Verticillium lecanicidium*”

3.5 IDENTIFICACION DEL VECTOR

En el laboratorio de Entomología de la Universidad de Nariño, se logró identificar individuos ápteros de color verde oscuro a negro brillante con cornículos de forma cilíndrica con un leve hinchamiento, mas largos que la cauda, antenas largas no completamente oscuras ligeramente más pequeñas que el cuerpo que está cubierto por un polvo fino y unguis hasta tres veces la base del sexto segmento antenal. Teniendo en cuenta las anteriores características se logró determinar al género *Rhopalosiphum* como el vector del virus en estudio.

El CIMMYT destaca que:

Sólo en el Virus del Mosaico Enanizante del Maíz (MDMV) y en el Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar (SCMV) existe transmisión por áfidos en forma no persistente donde se encuentra incluido como vector *Rhopalosiphum maidis* Fitch, con el cual la eficiencia de transmisión de

⁵³ INFOAGRO. Control de áfidos o pulgones. [en línea] Costa Rica. [Citado 15 mar., 2005]. Disponible in Internet: <URL : [http:// www.infoagro.com](http://www.infoagro.com)>

⁵⁴ MENDOZA, Leider y MIPAZ, Beatriz. Evaluación de extractos vegetales de plantas para el control de plagas en papa (*Solanum tuberosum*), frijol (*Phaseolus vulgaris*) y repollo (*Brassica oleraceae*) en la zona andina del departamento de Nariño. Pasto, 2004, p.24. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo) Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas

los virus ha llegado a ser de 55% y 70 respectivamente, a diferencia del virus en estudio, el cual muestra tener una efectividad baja⁵⁵.

3.6 TRANSMISION 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 12.5% ya que de 80 semillas sembradas, 10 presentaron síntomas entre los 28 y 33 días después de la siembra manifestando un moteado suave que progresa desde la base de las hojas jóvenes extendiéndose a todas las hojas hasta conformar bandas cloróticas irregulares, evidenciando una detención en el crecimiento que no se manifestó en todas las plantas sintomáticas (Figura 6).

La anterior, es la variable que mayor preocupación suma si consideramos que la mayoría de productores tradicionales de maíz de la zona, adquieren semilla para siembras posteriores a partir de la cosecha obtenida, con criterios de selección que no son suficientes para la consecución de semilla de calidad, es decir, el desconocimiento de que el virus en estudio es transmitido por semilla permite que el agricultor en forma inconsciente esté llevando la enfermedad al campo.

Aún cuando el virus es transmitido en un porcentaje no mayor al 12.5% es necesario que este hecho sea puesto en conocimiento del productor a fin que éste identifique previamente o durante la cosecha, aquellas mazorcas provenientes de plantas enfermas y no las destine para semilla en siembras futuras.

⁵⁵ CIMMYT. Enfermedades del maíz: una guía para su identificación en campo. [en línea] México . [citado 5 sep., 2004]. Disponible en internet : <URL : http://www.cimmyt.org/spanish/docs/field_guide/Maite/pdf/enfermaiz.pdf>. p. 95.

Figura 6. Síntomas presentados en plantas de maíz bajo condiciones de invernadero a través de transmisión por semilla. a) Moteado clorótico en la base de hojas jóvenes acompañado de manchas irregulares en hojas verdaderas b) Bandas cloróticas ascendentes paralelas a las nervaduras de las hojas;



a



b

Según reportes del CIMMYT: “solamente El virus de la Caña de Azúcar (SCMV), el Virus del Mosaico Enanizante del Maíz (MDMV) y el Virus del Moteado Clorótico del Maíz (MCMV) han mostrado capacidad de transmitirse por semilla con eficiencias bajas que no superan el 10% en todos los casos, semejándose al virus en estudio en el cual la eficiencia del 12.5%”⁵⁶.

3.7 PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

Los resultados logrados en estas pruebas indican que 25 de 35 plantas de maíz (71.42%) inoculadas con savia de trigo infectada, desarrollaron síntomas similares a los encontrados en las otras pruebas de transmisión.

En pruebas de transmisión trigo-maíz, los síntomas recuperados aparecieron entre los 15 y 18 días de la inoculación y se manifestaron como manchas cloróticas muy tenues en la base de las hojas jóvenes que luego se extendieron a todas las hojas produciendo bandeados cloróticos desuniformes y detención en el crecimiento no evidenciado en todas las plantas inoculadas. (Figura 7).

⁵⁶ Ibid., p.95

Al haber hecho pruebas con otros hospedantes así como en plantas indicadoras, sin importar la presencia o no de síntomas en ellas, se determinó que ninguna de ellas era portadora del virus.

Figura 7. Síntomas recuperados a través de transmisión mecánica de trigo a maíz. a) Presencia de manchas cloróticas irregulares generalizadas en la planta; b) formación de bandas cloróticas paralelas a las nervaduras de las hojas.



a



b

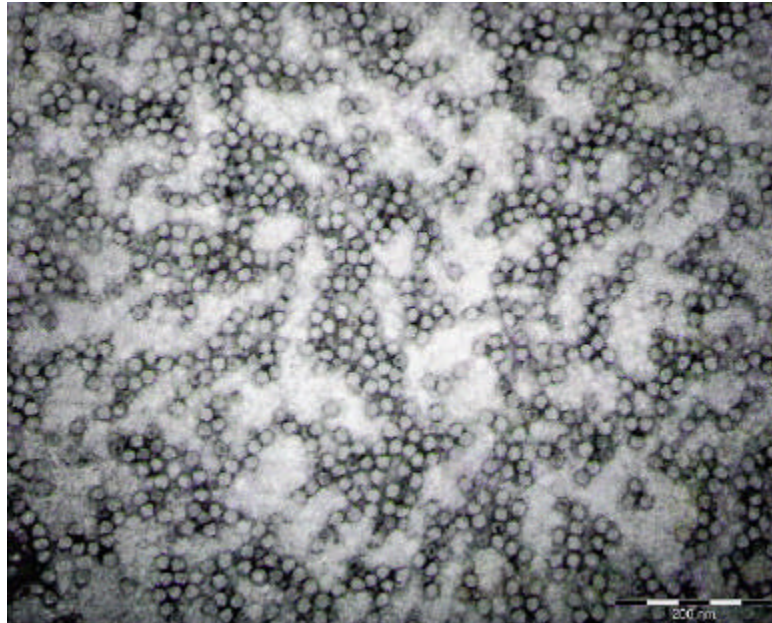
3.8 MICROSCOPIA ELECTRONICA

En el Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, Palmira, Valle, mediante la técnica de tinción negativa, se observaron al microscopio electrónico de transmisión, partículas isométricas de 30 nm, de diámetro presentes en tejidos foliares sintomáticos procedentes de hojas jóvenes de plantas de maíz (Figura 8).

Es importante considerar que el estudio de la forma y tamaño de la partícula viral es un criterio que ayuda a la clasificación de virus, pero sólo la suma de todas sus propiedades permite su ubicación taxonómica

En el cultivo de maíz, el Virus del rayado del Maíz (MSV), el Virus del Rayado Fino del Maíz (MRFV), el Virus del Rayado Fino Colombiano del Maíz (MRCV) y el Virus del Moteado Clorótico del Maíz (MCMV) poseen partículas isométricas con diámetros que oscilan entre 20 y 33 nm, sin embargo, no guardan relación con el virus en estudio debido a otras diferencias ya descritas anteriormente.

Figura 8 Partículas del virus en maíz observadas mediante microscopio electrónico de transmisión.



4. CONCLUSIONES

? El disturbio en maíz reportado en la vereda San Germán, municipio de Guaitarilla es de etiología viral y se transmite en forma mecánica, por áfidos del género *Rhopalociphum*, así como por semilla sexual.

? El estudio comprobó que el trigo es hospedante alternativo del patógeno

? La suma de todas las pruebas realizadas, así como la sintomatología presentada determinaron que se trata de un virus diferente a los estudiados pues no presenta relación específica y completa con alguno de los virus y fitoplasmas ya reportados en maíz en zonas tropicales.

5. RECOMENDACIONES

- ? Realizar estudios que permitan determinar el efecto de la enfermedad sobre la producción de maíz en las localidades afectadas
- ? Determinar la distribución y la incidencia de la enfermedad en zonas maiceras del departamento de Nariño.
- ? Determinar la respuesta de diferentes materiales de maíz al virus.
- ? Realizar estudios moleculares para completar la caracterización del virus y aportar datos para su clasificación taxonómica

BIBLIOGRAFIA

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

BASCOPÉ, Benigno. Bacterias y fitoplasmas. En: I Curso Internacional Sobre Diagnóstico y Enfermedades en Maíz. Cochabamba : CIMMYT, 1997. 94 p.

BAUER, María. Fitopatología. México: Limusa , 1985. 383 p

BUSTILLO, Alex y SANCHEZ, Guillermo. Los áfidos en Colombia, plagas que afectan los cultivos agrícolas de importancia económica. Bogotá : ICA-Colciencias, 1981, 96 p.

CASTILLO, Germán. Estudios biológicos del achaparramiento del maíz en el Valle del Cauca. En : CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN COLOMBIANA DE FITOPATOLOGIA ASCOLFI. (6º : 1999 : Manizales). Memorias del VI Congreso de LA asociación Colombiana de Fitopatología ASCOLFI. Manizales : ASCOLFI, 1999. p. 15.

CIMMYT. Enfermedades del maíz: una guía para su identificación en campo. [en línea] México [citado 5 sep., 2004]. Disponible en internet : <URL : http://www.cimmyt.org/spanish/docs/field_guide/Maite/pdf/enfermaiz.pdf. > 112 p.

CORDOBA, Carlos *et al.* Situación fitosanitaria del maíz (*Zea mays* L) en el Valle del Cauca. En : Fitopatología Colombiana. Vol. 23, No.1 (Jun, 1999); p. 36-38

DE LEON, Carlos. Enfermedades del maíz causadas por hongos. En I Curso Internacional Sobre Diagnóstico y Enfermedades en Maíz. Cochabamba: CIMMYT, 1997. 94 p.

DE LEON, Carlos y MORALES, Francisco. Determinación y efecto de enfermedades virosas en maíz en América del Sur: XXXIII reunión. Panamá : PCCMCA, 1997. p. 28-32

DIJKSTRA, Jeanne y DE JAGER, Cess. Practical plant virology. New York : Pro Edit, 1998. 459 p.

DOMINGUEZ, J y CARDENAS, A. El virus del rayado fino: su efecto en el maíz criollo a distintas épocas de infección. En: Chapingo. Vol. 10, No. 47-49, (1985); p.102-103

GARAVITO, Andrea. Cómo se defienden las plantas frente a los virus: interacciones y mecanismos moleculares. En: CONGRESO ASCOLFI NUEVAS TENDENCIAS EN FITOPATOLOGÍA. (23º : 2002 : Bogotá). Ponencias del XXIII

Congreso ASCOLFI Nuevas Tendencias en Fitopatología. Bogotá : Panamericana, 2002. 138 p.

INFOAGRO. Control de áfidos o pulgones. [en línea]. Costa Rica. [citado 15 mar., 2005]. Disponible in Internet : <URL : [http// www.infoagro.com](http://www.infoagro.com)>.

LAWSON, Roger. Transmission of plant viruses: Loebenstein, Gad; LAWSON, Roger y BRUNT, Alan. Virus and virus-like diseases of bulb and flower crops. New York : John Wiley and sons, 1995. 524 p.

MENDOZA, Leider y MIPAZ, Beatriz. Evaluación de extractos vegetales de plantas para el control de plagas en papa (*Solanum tuberosum*), frijol (*Phaseolus vulgaris*) y repollo (*Brassica oleraceae*) en la zona andina del departamento de Nariño. Pasto, 2004, 103 p. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo) Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas.

MARTÍNEZ LÓPEZ, Gerardo *et al.* Una nueva enfermedad del maíz en Colombia transmitida por el saltahoja *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott). En: Fitopatología. Vol. 9 (Oct., 1974); p. 9-3-94

MARTINEZ, Gerardo y VARON DE AGUDELO, Francia. Observaciones preliminares sobre la transmisión de virus en maíz por *Peregrinus maidis*. En: Revista Colombiana de Entomología. Vol. 6, No. 3-4, (1980); p.72-73

MATTHEWS, G. Plant Virology. New Cork : Academia, 1991. 835 p.

MENDOZA, Leider y MIPAZ, Beatriz. Evaluación de extractos vegetales de plantas para el control de plagas en papa (*Solanum tuberosum*), frijol (*Phaseolus vulgaris*) y repollo (*Brassica oleraceae*) en la zona andina del departamento de Nariño. Pasto, 2004, 24 p. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo) Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas

MORALES, Francisco. Las enfermedades virales del maíz en América del Sur. Reunión de coordinadores de programas de maíz en Sur América. Cali : s.n., 1996. p. 92-96

MORALES, Francisco y DE LEON, Carlos. Diagnóstico de enfermedades virales en maíz. En: I Curso Internacional Sobre Diagnóstico y Enfermedades en Maíz. Cochabamba : CIMMYT, 1997. p. 31-92

NARIÑO. SECRETARIA DE AGRICULTURA. Consolidado Agropecuario acuícola y pesquero: Sección de informática y estadística. San Juan de Pasto : s.n., 2004. 122 p.

OSPINA, José. Tecnología del cultivo de maíz. Santa Fe de Bogotá : Fondo Nacional Cerealista, 1999. 335 p.

RICO DE CUJIA, L. Relación entre la presencia de síntomas y la concentración del virus del Rayado colombiano del maíz en plantas afectadas. En: Fitopatología Colombiana. Vol. 1 (Jun., 1980); p.18-20.

SANINET. Achaparramiento del maíz. [en línea] s.n. s.f. [citado 23 nov., 2004]. Disponible en Internet : <URL : <http://www.iicasaninet.net>>.

SHURTLEFF, Malcolm. Compendium of corn diseases. New York : The American Phytopathological Society, 1992. 120 p

UNIVERSITY OF IDAHO. Plant Viruses [en línea]. Idaho: s.n. Ago. 1996 [citado 12 sep, 2004]. Disponible en Internet : <URL : <http://www.image.fs.uidaho.edu/vide/sppindex.htm#M>>.

VARON DE AGUDELO, Francia. Enfermedades causadas por virus en maíz en el Valle del Cauca. En: ASIAVA. Vol. 6, (Ago.-Sep., 1983); p.27-31.

VARON DE AGUDELO, Francia. y MARTNEZ, Gerardo. La raya gruesa del maíz: Un rhabdovirus transmitido por *Peregrinus maidis*. En : CONGRESO DE LA ASOCIACION COLOMBIANA DE FITOPATOLOGIA. ASCOLFI. (5º : 1982 : Cali). Ponencias del V congreso de la Asociación Colombiana de Fitopatología ASCOLFI. Cali : ASCOLFI, 1982. 123 p.

VARON DE AGUDELO, Francia *et al.* Achaparramiento del maíz *Zea mays* L. en el Valle del Cauca. En: Fitopatología Colombiana, Vol. 25, No. 2 (Jul., 2001); p. 85-89.

ZUÑIGA, Boris. Estudio de la relación hongo - virus en la presencia del amarillamiento del maíz *Zea mays* L en el Valle de Sibundoy. Pasto, 1991, 55 p. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo). Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas.

ANEXOS
ANEXOS

Anexo A. Clave general para las especies de áfidos apteros de Colombia

Con esta clave se puede llegar a la identificación de cualquiera de las 49 especies de áfidos registradas en Colombia. Solamente incluye las formas ápteras que son las más comunes que se encuentran en el campo

1. Cornículos ausentes si están presentes son mamiliformes o sea ligeramente levantados sobre la superficie en el cuerpo.....**2**

Cornículos presentes largos sobresaliendo sobre el cuerpo de forma cilíndrica cónica o clavada**10**

2. Cornículos ausentes.....**3**

Cornículos mamiliformes.....**4**

3. Antenas con 5 segmentos, 1/5 de la longitud del cuerpo***Pemphigus* sp**

Antena con 6 segmentos, 1/3 de la longitud del cuerpo***Asiphoniella daetylonii***

4. Cuerpo en forma de coccido; de color negro con una franja blanca cerosa rodeando la margen del cuerpo; apéndices muy reducidos**5**

Cuerpo no en forma de coccido; no negro, sin margen, Antena más larga que el cuerpo.....**6**

5. Antena con 4 segmentos; con 1.3 pares de pelos cortos, agudos o espatulados sobre el vértex..... ***Cerataphis variabilis***

Antena con 5 segmentos; sin pelos cortos, agudos o espatulados sobre el vértex.....***Cerataphis orcidearum***

6. Pulgones con secreciones cerosas en la extremidad abdominal semejante a lana o algodón que alcanza 3 - 4 mm de largo.....
.....***Eriosoma lanigerum***
Pulgones sin esas secreciones cerosas en la extremidad del abdomen..... 7
7. De color gris oscuro; cuerpo triangular entre los dos cornículos; pico sobrepasando el III par de coxas; pulgones grandes, longitud de cuerpo 2,8 - 5,5m.....**8**
- Pulgones amarillos a marrones; cuerpo no triangular; pico terminado no mas allá del III par de coxas; longitud del cuerpo 1.6 – 2.1 mm**9**
8. Abdomen con un tubérculo dorsal grande en forma de cono; longitud del cuerpo 4,5 – 5,5 mm; en sauce..... ***Tuberolachnus salignus***
- Abdomen sin tubérculo dorsal; longitud del cuerpo 2,8 – 3,2 mm; en coníferas.....***Cinara fresai***
9. Color amarillo, cuerpo plano, con setas largas; en el follaje.....***Shipa flava***
- Color marrón, cuerpo globoso, sin setas largas; en la nariz.....***Tetraneura nigriabdominales***
10. Con un proceso supracaudal en forma de dedo
..... ***Cavariella aego podii***
- Sin proceso supracaudal..... **11**
11. Cornículos con un hinchamiento muy notorio en su mitad..... ***Rhopalosiphoninus tysiphon***
- Corniculos sin hinchamientos notorios en su mitad, si con algún hinchamiento.....**12**
12. Color del áfido velado por un fino polvo ceraceo blanco grisáceo; en crucíferas.....***Brevicoryne brassicae***
- Color del áfido no velado por polvos ceraceos.....**13**

13. Margen frontal cóncavo, con tubérculos antenales laterales desarrollados.....	14
Margen frontal no cóncavo, liso o sinuoso.....	29
14. Cuerpo de color morado, marron oscuro o negro brillante.....	15
Cuerpo de color diferente a morado, marron o negro.....	19
15. Longitud del cuerpo mayor de 2.5 mm.....	16
Longitud del cuerpo menor de 2.5 mm.....	17
16. Cornículos cónicos; pico terminado en el III par de coxas	<i>Urolencon ambrosiae</i>
Cornículos hinchados desde su mitad hacia el ápice; pico terminado entre el II y III par de coxas	<i>Urolencon sonchi</i>
17. Tercer segmento antenal sin sensorias; cornículos con una ligera hinchazón hacia el extremo distal, reborde muy notorio en forma de anillo; en musaceas	<i>Pentalonia nigronervosa</i>
Tercer segmento antenal con 1 – 2 sensorias; cornículos sin hinchazón, ni rebordes notorios; en leguminosas	18
18. Cornículos 1.1 a 1.5 veces la longitud de kla cauda	<i>Picruraphis brasiliensis</i>
Corniculos 1.7 a 2.0 veces la longitud de la cauda.....	<i>Picruraphis vignaphilus</i>
19. Antena más larga que el cuerpo.....	20
Antena más corta o tan larga que el cuerpo.....	26
20. Antena 1.5 a 2.0 veces mas larga que el cuerpo.....	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>
Antena mas larga que el cuerpo pero meneso de 1.5 veces su longitud.....	21

21. Cornículos mas cortos que la cauda.....	<i>Macrosiphoniella sanborni</i>
Corniculos mas largos que la cauda.....	22
22. Abdomen con una mancha grande negra en el dorso.....	<i>Macrosiphum avenae</i>
Abdomen sin manchas en el dorso.....	23
23. Corniculos en su totalidad oscuros a negros	<i>Macrosiphum rosae</i>
Corniculos pálidos o como máximo 2/3 distales de color oscuro.....	24
24. Pico terminado entre el I y II par de coxas; cauda con 2 pares de pelos	<i>Rhodobium porosum</i>
Pico terminado entre el II y III par de coxas, acuda con 3 a 4 pares de pelos	25
25. Corniculos pálidos a verdes en su totalidad; antena pálida	<i>Aulacorthum solani</i>
Corniculos negros en sus 2/3 distales; antena con los extremos distales de los segmentos II y IV y todo el V y el VI de color negros.....	<i>Urelencon erigeronensis</i>
26. Tubérculos antenales laterales convergentes	<i>Myzus persicae</i>
Tubérculos antenales laterales no convergentes.....	27
27. Con manchas oscuras a los lados del abdomen; pico sobrepasando el II par de coxas.....	<i>Myzus ornatus</i>
Sin manchas a los lados del abdomen; pico terminado entre el I y II par de coxas	28
28. Corniculos no curvados; cauda con 2 pares de pelos laterales; longitud del cuerpo 1.2 – 1.3 mm.....	<i>Chaetosiphon fragaegolii</i>

Cornículos no curvados; cauda con 3 – 4 pares de pelos laterales; longitud del cuerpo 2.5 – 3.0 mm.....	Acyrosiphon dirhodum
29. Cuerpo de color verde oscuro, pardo o negro brillante.....	30
Cuerpo de color pálido, amarillo o verde claro.....	37
30. Cauda llevando 5 o mas pares de pelos laterales.....	31
Cauda con menos de 5 pares de pelos laterales.....	33
31. Color verde oscuro a negro; cauda con un ligero cuello en su base	Aphis fabae
Color pardo oscuro a negro brillante; cauda sin cuello en su base.....	32
32. Cornículos $\frac{1}{2}$ de la longitud del cuerpo; cauda con 5 - 13 pares de pelos laterales; antena con la base de los segmentos negra; pelos antenales mas cortos que el diámetro basal del III segmento antenal.....	Toxoptera aurantii
Cornículos $\frac{1}{4}$ a $\frac{1}{5}$ de la longitud del cuerpo; cauda con 9 – 27 pares de pelos laterales; antena toda net negra; pelos antenales hasta el doble del diametro basal del III segmento antenal.....	Toxoptera citricidus
33. Antena más larga o tan larga como la longitud del cuerpo.....	34
Antena más corta que la longitud del cuerpo.....	35
34. Unguis 5 – 6 veces la longitud de la base del VI segmento antenal; cauda negra con 3 pares de pelos laterales; antena tan larga como la longitud del cuerpo; en vid.....	Aphis illinoisensis
Unguis 3 veces la longitud de la base del VI segmento antenal; cauda pálida, con 2 pares de pelos laterales; antena más larga que el cuerpo; en gramíneas.....	Hysteroxena setariae
35. Pico terminado entre el I y II par de coxas; antena corta apenas alcanzando la mitad de la longitud del cuerpo.....	Aphis rumicis

- Pico terminado entre el II y III par de coxas; antena alcanzando entre los $\frac{2}{3}$ y $\frac{3}{4}$ de la longitud del cuerpo.....**36**
- 36.** Tubérculo lateral prominente en el pronoto; cornículos no estrechos hacia la parte distal, con rebordes.....***Aphis craccivora***
- Tubérculo lateral poco visible en el pronoto; cornículos estrechos hacia la parte distal con un reborde bien diferenciado.....***Rophalosiphum padi***
- 37.** Cornículos notoriamente hinchados hacia la mitad distal; margen frontal sinuoso en forma de W.....***Nasonovia lactucae***
- Cornículos no hinchados, o si hinchados, solo ligeramente en su parte media; margen frontal liso o sinuoso pero no como arriba.....**38**
- 38.** Con pelos capitados; primer segmento antenal giboso.....**39**
- Sin pelos capitados; primer segmento antenal no giboso.....**40**
- 39.** Pico terminado entre el II y III par de coxas; con 4 pelos capitados en el dorso de los segmentos abdominales VII y VIII.....***Capitophorus elaeagni***
- Pico terminado en entre el I y II par de coxas; con 2 pelos capitados en el dorso de los segmentos abdominales VII y VIII.....***Capitophorus hippophaes***
- 40.** Abdomen con dos hileras longitudinales dorsales de grandes manchas oscuras.....***Lipaphis erysimi***
- Abdomen sin hileras longitudinales dorsales de manchas.....**41**
- 41.** Cauda con la misma longitud de los cornículos o ligeramente más larga**42**
- Cauda mas corta que los cornículos.....**43**
- 42.** Antena alcanzando un poco más de la longitud del cuerpo; cornículos $\frac{1}{12}$ de la longitud del cuerpo; color amarillo grisáceo; en caña de azúcar.....***Melanophis sacchari***

- Antena corta alcanzando casi 1/3 de la longitud del cuerpo; cornículos 1/11 de la longitud del cuerpo, color verdusco; en crisantemo.....***Brachycaudus rufiabdominalis***
- 43.** Antena con 5 segmentos.....***Rhopalosiphum rufiabdominalis***
- Antena con 6 segmentos.....**44**
- 44.** Abdomen con pequeñas áreas esclerotizadas sobre el dorso.....**45**
- Abdomen sin pequeñas áreas esclerotizadas sobre el dorso.....**46**
- 45.** Cornículos 2 veces más largos que la cauda; fémur, tibia y tarsos oscuros.....***Dysaphis apiifolia***
- Cornículos ligeramente más largos que la cauda; fémur, tibia y tarsos pálidos.....***Dysaphis foeniculus***
- 46.** Antena completamente oscura; unguis 4-5 veces la base del VI segmento antenal; color del cuerpo amarillo intenso..... ***Aphis nerii***
- Antena no completamente oscura; unguis como máximo 3 veces la base del VI segmento antenal; color amarillo pálido a verde.....**47**
- 47.** En el VIII segmento abdominal con un esclerito dorsal oscuro; cornículos ligeramente hinchados en su parte media.....***Rhopalosiphum maidis***
- En el VIII segmento abdominal sin escleritos oscuros; cornículos sin hinchazones.....**48**
- 48.** Cauda oscura con una fuerte constricción en su base; 6 – 9 pares de pelos laterales.....***Aphis spiraecola***
- Cauda pálida no constreñida en su base; con 3 pares de pelos laterales.....***Aphis gossypii***

**ESTUDIO DE LA ETIOLOGIA DE UN NUEVO DISTURBIO EN MAIZ (*Zea mays*
Linneo) PRESENTE EN LA ZONA SUROCCIDENTAL DEL DEPARTAMENTO
DE NARIÑO**

**DIEGO FERNANDO AZA BURGOS
JAIRO EDGAR MARTINEZ ESTRELLA**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS
PROGRAMA DE INGENIERIA AGRONOMICA
SAN JUAN DE PASTO
2005**

**ESTUDIO DE LA ETIOLOGIA DE UN NUEVO DISTURBIO EN MAIZ (*Zea mays*
Linneo) PRESENTE EN LA ZONA SUROCCIDENTAL DEL DEPARTAMENTO
DE NARIÑO**

**DIEGO FERNANDO AZA BURGOS
JAIRO EDGAR MARTINEZ ESTRELLA**

**Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al título de
INGENIERO AGRÓNOMO**

**Presidente de Tesis
CARLOS ARTURO BETANCOURTH GARCIA I.A., M.Sc.**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS
PROGRAMA DE INGENIERIA AGRONOMICA
SAN JUAN DE PASTO
2005**

“Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado son responsabilidad exclusiva de sus autores.

Artículo 1º del Acuerdo No. 324 de Octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño”.

Nota de aceptación:

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

San Juan de Pasto, abril de 2005

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

Carlos Arturo Betancourth García, Ingeniero Agrónomo M. Sc. Docente Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño.

Luis Eduardo Vicuña Dorado. Ingeniero Agrónomo M. Sc. Docente Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño.

Claudia Salazar González. Ingeniera Agrónoma M. Sc. Docente Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño.

Francisco Santander. Ingeniero Agrónomo M. Sc. Agropecuaria La Hacienda, San Juan de Pasto

Antonio Bolaños. Ingeniero Agrónomo M. Sc. Centro de Investigación CORPOICA, Obonuco, Nariño

Benjamin Sañudo Sotelo. Ingeniero Agrónomo. Docente Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño.

La Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Nariño.

Todas aquellas personas que de una forma u otra colaboraron en la realización del presente trabajo.

A

Dios

Mis padres

Mis hermanos

Mi tío Alberto

Mis familiares

Mis amigos

Diego Fernando Aza Burgos

A

Dios

Mis padres

Mis hermanas

Mis sobrinos

Mis familiares

Mis amigos

Jairo Edgar Martínez Estrella

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCION	19
1. MARCO REFERENCIAL	21
1.1 GENERALIDADES	21
1.2 PRINCIPALES ENFERMEDADES VIRALES DEL CULTIVO DE MAÍZ	22
1.2.1 Virus del Mosaico del Maíz (MMV)	22
1.2.2 Virus del Mosaico Enanizante del Maíz (MDMV)	22
1.2.3 Virus del Rayado Fino del Maíz (MRFV)	23
1.2.4 Virus del Rayado Colombiano del Maíz (MRCV)	23
1.2.5 Virus del Bandeado del Maíz (MStpV)	24
1.2.6. Virus del Rayado del Maíz (MSV)	24
1.2.7 Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar (SCMV)	25
1.2.8 Virus del Moteado Clorótico del Maíz (MCMV)	25
1.2.9 Virus del Enanismo Clorótico del Maíz (MCDV)	26
1.3 DISTURBIOS OCASIONADOS POR FITOPLASMAS EN EL CULTIVO DE MAIZ	26
1.3.1 Achaparramiento tipo "M" o Enanismo arbustivo del maíz	27
1.3.2 Achaparramiento tipo "S" o Achaparramiento del maíz	27
1.4 IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LOS VIRUS EN EL CULTIVO DE MAIZ	28
1.5 METODOS DE INVESTIGACION EN VIROLOGIA VEGETAL	28
1.5.1 Transmisión mecánica	28

1.5.2 Transmisión por insectos	29
1.5.3 Transmisión por semilla	29
1.6 PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS DE LOS VIRUS	29
1.6.1 Punto final de dilución (PFD)	29
1.6.2 Longevidad <u>In vitro</u> (LIV)	30
1.6.3 Punto termal de inactivación (PTI)	30
2. DISEÑO METODOLOGICO	31
2.1 LOCALIZACIÓN	31
2.2 FUENTE DE INÓCULO	31
2.3 PROCESAMIENTO ESTADISTICO	31
2.4 TRANSMISIÓN MECÁNICA	31
2.5 MULTIPLICACION DE HOSPEDANTES ALTERNOS Y PLANTAS INDICADORAS	33
2.6 DETERMINACION DE LAS PROPIEDADES FÍSICO – QUÍMICAS DEL IRUS	33
2.6.1 Longevidad <u>in vitro</u> (LIV)	33
2.6.2 Punto final de dilución (PFD)	33
2.6.3 Punto termal de inactivación (PTI)	34
2.7 TRANSMISIÓN POR INSECTOS	34
2.8 IDENTIFICACION DEL VECTOR	35
2.9 TRANSMISIÓN POR SEMILLA	35
2.10 PRUEBAS DE PATOGENICIDAD	36
2.11 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA	36
3. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	37

3.1 TRANSMISION MECANICA Y RANGO DE HOSPEDANTES	37
3.2 HOSPEDANTES ALTERNOS Y PLANTAS INDICADORAS	40
3.3 PROPIEDADES FISICO – QUIMICAS	41
3.4 TRANSMISION POR INSECTOS	45
3.5 IDENTIFICACION DEL VECTOR	50
3.6 TRANSMISION POR SEMILLA	51
3.7 PRUEBAS DE PATOGENICIDAD	52
3.8 MICROSCOPIA ELECTRONICA	53
4. CONCLUSIONES	55
5. RECOMENDACIONES	56
BIBIL OGRAFIA	57
ANEXOS	60

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Eficiencia de la transmisión mecánica del virus en diferentes especies de plantas	37
Cuadro 2. Longevidad <u>In vitro</u> del virus en maíz	42
Cuadro 3. Punto termal de inactivación del virus en maíz	42
Cuadro 4. Punto final de dilución del virus en maíz	42
Cuadro 5. Transmisión del virus por áfidos del género <i>Rhopalosiphum</i> en grupos de 10 insectos, en diferentes especies de plantas con un período de inoculación de 10 minutos, un período de ayuno de 20 minutos y diferentes períodos de adquisición.	46
Cuadro 6. Transmisión del virus por áfidos del género <i>Rhopalosiphum</i> en grupos de 10 insectos, en diferentes especies de plantas con un período de adquisición de 5 minutos, un período de ayuno de 20 minutos y diferentes períodos de inoculación.	47
Cuadro 7. Eficiencia de transmisión del virus en maíz por áfidos del género <i>Rhopalosiphum</i> en grupos de 1, 3, 5 y 10 por planta con un período de adquisición de 5 minutos y un período de inoculación de 10 minutos y un período de ayuno de 20 minutos.	48

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Síntomas registrados en plantas de maíz, en condiciones de campo, cultivos localizados en el municipio de Guaitarilla y la vereda San Germán, a) Punteado clorótico en la base de las hojas. b) Bandeado clorótico desuniforme paralelo a las nervaduras c) Planta enana por acortamiento de entrenudos; d) Plantas con estado avanzado de la enfermedad.	32
Figura 2. Síntomas presentados en plantas de maíz, bajo condiciones de invernadero por medio de transmisión mecánica. a) Moteado clorótico en la base de las hojas b) Hojas con manchas cloróticas en estado avanzado. c) Bandeado irregular paralelo a las nervaduras de la hoja; d) Detención en el crecimiento evidenciado por el acortamiento de entrenudos.	38
Figura 3. Síntomas registrados en invernadero en plantas de trigo a partir de transmisión mecánica. a) presencia de puntos cloróticos las hojas; b) planta con necrosis foliar	41
Figura 4. Curvas de la Longevidad <u>In Vitro</u> , Punto termal de inactivación y Punto final de dilución	43
Figura 5. Síntomas registrados en plantas de maíz bajo condiciones de invernadero a través de transmisión por insectos. a) Bandeado clorótico ascendente desde la base de las hojas; b) Planta con manchas cloróticas dispersas presentes en todas las hojas; c) Acortamiento drástico de entrenudos	49
Figura 6. Síntomas presentados en plantas de maíz bajo condiciones de invernadero a través de transmisión por semilla. a) Moteado clorótico en la base de hojas jóvenes acompañado de manchas irregulares en hojas verdaderas b) Bandas cloróticas ascendentes paralelas a las nervaduras de las hojas	52
Figura 7. Síntomas recuperados a través de transmisión mecánica de trigo a maíz. a) Presencia de manchas cloróticas irregulares generalizadas en la planta; b) formación de bandas cloróticas paralelas a las nervaduras de las hojas.	53
Figura 8. Partículas del virus en maíz observadas mediante microscopio electrónico de transmisión.	54

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Clave general para las especies de afidos apteros de Colombia	61

GLOSARIO

CARBORUNDUM: abrasivo utilizado en virología para causar laceraciones.

CEPA: variación genética de un patógeno

ETIOLOGÍA: estudio de la causa de una enfermedad.

FISION BINARIA: sistema de reproducción en organismos unicelulares donde cada célula se parte en dos.

GEMACION: sistema de duplicación de organismos unicelulares donde se forma una yema que recibe uno de los núcleos mitóticos y una porción de citoplasma.

INOCULO: mínima estructura de un patógeno capaz de iniciar una enfermedad.

ISOMETRICO: cuerpo de forma poliédrica

LACERAR: causar heridas mediante el uso de un abrasivo.

LONGEVIDAD IN VITRO: tiempo en que un virus permanece infectivo por fuera del hospedante

MACERAR: moler tejido vegetal con la ayuda de un mortero.

PLEOMORFICO: partícula que puede adoptar diferentes formas

PUNTO FINAL DE DILUCION: concentración mínima a la cual un virus todavía es infectivo.

PUNTO TERMAL DE INACTIVACION: temperatura a la cual un virus ya no es infectivo.

TRANSMISIÓN: paso de un patógeno de una planta enferma a una planta sana.

TRANSOVARICO(A): capacidad de un patógeno para pasar a la siguiente generación de su organismo portador

VECTOR: organismo capaz de transmitir un agente patógeno.

VIROSIS: enfermedad causada por un virus

VIRUS: patógeno constituido por ácido nucleico y proteína.

RESUMEN

En localidades del municipio de Guitarilla, departamento de Nariño, en el año 1998 se detectó una enfermedad de etiología viral, atacando cultivos de maíz que manifiestan síntomas como puntos cloróticos en la base de las hojas jóvenes que progresan a bandas cloróticas gruesas e irregulares, acortamiento de entre nudos y mal formación en mazorcas.

Todos los síntomas fueron recobrados mediante inoculación mecánica logrando una eficiencia de transmisión de maíz a maíz siempre superior al 78%, manifestando síntomas entre 11 y 15 días después de la inoculación.

En pruebas de transmisión de maíz a trigo (*Triticum vulgare*) la eficiencia fue del 25.71% presentando moteados ligeros en las hojas, evidenciados a los 21 días de la inoculación, en plantas de cebada (*Hordeum vulgare*), triticale (*Triticum secale*), avena (*Avena sativa*), raigrass ubade (*Lolium multiflorum*), kikuyo (*Pennisetum clandestinum*), jurillo (*Paspalum hirtum*) pasto brasilero (*Phalaris* sp.), maicillo (*Paspalum prostratum*), tabaco (*Nicotiana tabacum*), frijol (*Phaseolus vulgaris*) quinua (*Chenopodium quinua*), pepino (*Cucumis sativum*) y tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum*) no se presentaron síntomas.

Se presentó transmisión del virus por semilla en un 12.5% así como por áfidos del género *Rhopalosiphum* en forma no persistente, con una eficiencia del 3.13%, 9.38%, 12.5% y 15.62% con 1, 3, 5 y 10 insectos respectivamente, con un periodo de inoculación de 10 minutos y un periodo de adquisición de 20 minutos

Respecto a las propiedades físico-químicas del virus, la Longevidad In vitro fue de 29 días, el punto final de dilución estuvo entre 10^{-4} y 10^{-5} y el punto termal de inactivación fue de 75 °C, observaciones hechas en tejido sintomático mediante microscopio electrónico de transmisión evidenciaron la presencia de partículas isométricas de 30 nm. de diámetro.

Las pruebas realizadas y la sintomatología presentada indicaron la presencia de un virus diferente a los estudiados, pues no presenta relación específica y completa con los virus ya reportados en maíz en zonas tropicales.

ABSTRACT

In the districts of Guaitrilla township, in the Nariño department, in 1998, it detected a sick of viral etiology attacking the maize crops that present symptoms like chlorothic points on the base of the young leaves that progress to chlorothic bands, coarse and irregular shortening between nodes and malformation in cobs

All the symptoms were recovered mechanical inoculation obtaining an efficiency of transmission of maize to maize always upper to 78% presenting symptoms between 11 and 15 days after of inoculation.

In the test of transmission of maize to wheat, the efficiency was of 21.75%, presenting light mottles on the leaves, demonstrated to the 21 days of inoculation, in the barley plants (*Hordeum vulgare*), triticale (*Triticum secale*), oat (*Avena sativa*), raigrass (*Lolium multiflorum*), kikuyo (*Pennisetum clandestinum*), jurillo (*Paspalum hirtum*) Brazilian grass (*Phalaris* sp.), maicillo (*Paspalum prostratum*), tobacco (*Nicotiana tabacum*), bean (*Phaseolus vulgaris*) quinoa (*Chenopodium quinoa*), cucumber (*Cucumis sativum*) and tomato (*Lycopersicon esculentum*) didn't present symptoms

It manifested transmission of the virus by seed in a 12.5% as soon as by aphids of the gender *Rhopalosiphum* in non persistent form, with an efficiency of 3.13%, 9.38%, 12.5% and 15.68% with 1, 3, 5 and 10 insects respectively, with an inoculation period of 10 minutes and a fast period of 20 minutes.

Respect to the properties physical and chemical of the virus, the longevity In vitro was of 29 days, the dilution end point was between 10^{-4} and 10^{-5} and inactivation thermal point was 75 °C, observations made in symptomatic foliar tissue through transmission electron microscope evidenced isometric particles of 30 nm of diameter.

The test made and the symptomatology presented showed the presence of a different virus to the studied, since don't present a specific and complete relation with the virus reported in the maize in tropical zones.

INTRODUCCION

Para Ospina en Colombia, “el maíz (*Zea mays* Linneo) es uno de los cultivos de mayor importancia que se pueda sembrar en todos los pisos térmicos y es la base de la dieta alimenticia en la mayoría de las diferentes regiones; su uso y consumo aumenta cada año por la gran demanda para la alimentación animal y transformación industrial”¹.

Según datos de la Secretaria de Agricultura

En el departamento de Nariño, el maíz es el cereal más cultivado y ocupa el quinto lugar en superficie sembrada después de la palma de aceite, la papa, el café y el plátano; para el año 2004 en el departamento se sembraron 13860 hectáreas del grano con un rendimiento promedio de 1.63 toneladas por hectárea superando el promedio nacional de 1.33 en siembras tradicionales.²

“El maíz se cultiva en los más variados ambientes, situación que hace a la planta susceptible al ataque de gran número de enfermedades en zonas tropicales que al no ser conocidas con anterioridad han llegado a ser limitantes en el rendimiento y calidad final de la cosecha”³

A partir del año 1998 en la zona sur occidental del departamento de Nariño, se viene presentado un disturbio de etiología viral en el cultivo de maíz, caracterizado por el achaparramiento de las plantas con distintas tonalidades cloróticas en las hojas y daño en la formación y producción de las mazorcas.

Con estos antecedentes se decidió estudiar su etiología, para obtener claridad hacia futuro en el establecimiento de estrategias de manejo adecuadas para la enfermedad.

Así, en el presente trabajo se dio cumplimiento a los siguientes objetivos:

Estudiar los mecanismos de transmisión del agente causante: mecánica, vectores y semilla

¹ OSPINA, José. Tecnología del cultivo de maíz. Santa Fe de Bogotá : Fondo Nacional Cerealista, 1999. p.11.

² NARIÑO. SECRETARIA DE AGRICULTURA. Consolidado Agropecuario acuícola y pesquero: Sección de informática y estadística. San Juan de Pasto : s.n., 2004. p. 51.

³ DE LEON, Carlos. Enfermedades del maíz causadas por hongos. En I Curso Internacional Sobre Diagnóstico y Enfermedades en Maíz. Cochabamba: CIMMYT, 1997. p. 17

Determinar las propiedades físico químicas del agente causante: LIV (Longevidad In vitro) PFD (Punto final de dilución y PTI (Punto termal de inactivación).

Reconocer los hospedantes del agente causante en gramíneas cultivadas, malezas y plantas indicadoras.

Determinar la morfología y el tamaño del agente causante.

1. MARCO REFERENCIAL

Respecto a las enfermedades de tipo viral en el cultivo de maíz, Morales y De León afirman que: “se han venido incrementando en los últimos años en todos los países productores, especialmente en los tropicales, causando serios perjuicios al cultivo, en algunos casos su identificación se torna difícil al encontrarse complejos virales por la presencia de varios virus en una misma planta”⁴

Teniendo en cuenta que el problema estudiado, está relacionado con un virus que afecta el cultivo de maíz, a continuación se hace una revisión acerca de las enfermedades de origen viral más limitantes en este cultivo, así como algunas definiciones de interés en virología vegetal; además, es interesante conocer algunas referencias sobre disturbios ocasionados por fitoplasmas, patógenos que pueden confundirse con virus.

1.1 GENERALIDADES

Para Agrios,

Los virus son partículas submicroscópicas de formas isométricas ó flexuosas capaces de generar enfermedades en su hospedante, están compuestos por material genético que puede ser ADN o ARN de cadena sencilla o doble y protegidos por una cubierta de proteína que se replica en el interior de células vivas usando la maquinaria de síntesis celular produciendo nuevas partículas que infectan nuevas células.⁵

“A diferencia de otros agentes infecciosos, los virus muchas veces no presentan síntomas destacados, por lo que pueden pasar inadvertidos o confundidos con otros factores que afectan a la planta”⁶

“En el cultivo de maíz se han registrado más de 30 virus causando distintos tipos de disturbio en las plantas afectadas; sin embargo, muchos de ellos no se presentan en forma natural en campo y otros tienen una distribución bien localizada”⁷.

⁴ MORALES, Francisco y DE LEON, Carlos. Diagnóstico de enfermedades virales en maíz. En: I Curso Internacional Sobre Diagnóstico y Enfermedades en Maíz. Cochabamba : CIMMYT, 1997. p. 29

⁵ AGRIOS, George. Fitopatología. México: Limusa, 1986. p. 312.

⁶ BAUER, María. Fitopatología. México: Limusa, 1985. p. 383.

⁷ UNIVERSITY OF IDAHO. Plant Viruses [en línea]. Idaho: s.n. Ago. 1996 [citado 12 sep, 2004]. Disponible en Internet : <URL : <http://www.image.fs.uidaho.edu/vid/sppindex.htm#M>>.

1.2 PRINCIPALES ENFERMEDADES VIRALES DEL CULTIVO DE MAÍZ

Dentro de las enfermedades virales de mayor importancia que afectan el cultivo de maíz se encuentran:

1.2.1 Virus del Mosaico del Maíz (MMV). “Este virus no se transmite mecánicamente ni por semilla, pero sí en forma persistente por el salta hojas *Peregrinus maidis* requiriendo un período de adquisición de menos de un día y un período de latencia de 11 a 29 días, la partícula tiene forma de bacilo y mide 242 nm de largo y 48 nm de diámetro”⁸

Respecto a la sintomatología del virus, Varón de Agudelo afirma que

Las hojas muestran puntos blancos a lo largo de la nervadura central los cuales al elongarse forman rayas amarillas que se prolongan desde la base a la punta de las hojas dando lugar a bandas cloróticas uniformes, también se presenta acortamiento de entrenudos y brácteas provocando que el extremo de la mazorca quede descubierto permitiendo daños por otros agentes⁹

1.2.2 Virus del Mosaico Enanizante del Maíz (MDMV). Según De León y Morales:

El virus es transmitido en forma mecánica, por semilla y por 26 especies de áfidos en forma no persistente siendo los vectores más importantes *Rhopalosiphum maidis*, *Myzus persicae*, *Aphis fabae* y *Acyrthosiphon pisum*; es un virus con forma isométrica cuyo punto termal de inactivación está entre 54 y 58 °C, su punto final de dilución oscila entre 10^{-4} y 10^{-5} y su longevidad in vitro a temperatura ambiente es de 1 a 2 días¹⁰.

Por otra parte, Morales dice que

El trastorno inicia con la presencia de pequeños puntos cloróticos en la base de las hojas que avanzan y forman un mosaico irregular y difuso en la lámina foliar con presencia de manchas pequeñas con rayas o anillos de color verde oscuro; con el tiempo las hojas cambian a un color amarillo más uniforme al tiempo que la planta reduce drásticamente su

⁸ MARTINEZ, Gerardo y VARON DE AGUDELO, Francia. Observaciones preliminares sobre la transmisión de virus en maíz por *Peregrinus maidis*. En: Revista Colombiana de Entomología. Vol. 6, No. 3-4, (1980); p.72

⁹ VARON DE AGUDELO, Francia. Enfermedades causadas por virus en maíz en el Valle del Cauca. En: ASIAVA. Vol. 6, (Agos.-Sep., 1983); p.28

¹⁰ MORALES, Francisco y DE LEON, Op.cit, p. 29

crecimiento y diámetro del tallo produciendo mazorcas deformes y mal llenadas.¹¹

1.2.3 Virus del Rayado Fino del Maíz (MRFV). León y Morales, afirman que:

El virus no se transmite en forma mecánica ni por semilla pero sí en forma persistente por el salta hojas *Dalbulus maidis* con un periodo de adquisición de 6 horas y uno de incubación de 8 a 11 días alimentándose al menos por 8 horas en plantas sanas para poder ser transmitido; el virus se multiplica en su vector por lo que es propagativo pero no transovárico, presenta forma isométrica midiendo 33 nm de diámetro y tiene un punto de inactivación térmica de 60 a 65 °C¹².

Domínguez y Cardenas¹³ coinciden en que: “La característica principal de la enfermedad es una serie de puntos cloróticos pequeños en la base de las hojas en forma paralela a las nervaduras que al unirse pueden formar rayas delgadas de cinco a diez centímetros de longitud, presentando además, enanismo y disminución del tamaño del sistema radical, espiga y mazorcas”¹³

1.2.4 Virus del Rayado Colombiano del Maíz (MRCV). Estudios realizados por Martínez, *et al.*, indican que:

Es uno de los aislamientos del virus del Rayado fino del maíz (MRFV), ampliamente diseminado en América; el virus es transmitido por el Cicadélido *Dalbulus maidis* en forma persistente con un periodo de incubación en el insecto de 22 a 24 días, siendo propagativo en el insecto; el virus tiene un punto termal de inactivación de 60 a 65°C y una longevidad In vitro de 3 a 4 días a 20°C y de 4 a 5 días a 3°C y las partículas del virus son isométricas de 30 nm de diámetro perteneciente al género Marafivirus.¹⁴

¹¹ MORALES, Francisco. Las enfermedades virales del maíz en América del Sur. Reunión de coordinadores de programas de maíz en Sur América. Cali : s.n., 1996. p.22.

¹² DE LEON, Carlos y MORALES, Francisco. Determinación y efecto de enfermedades virales en maíz en América del Sur: XXXXIII reunión. Panama : PCCMCA, 1997. p. 28.

¹³ DOMINGUEZ, J y CARDENAS, A. El virus del rayado fino: su efecto en el maíz criollo a distintas épocas de infección. En: Chapingo, Vol. 10, No. 47-49, (1985); p.102.

¹⁴ MARTÍNEZ LÓPEZ, Gerardo *et al.* Una nueva enfermedad del maíz en Colombia transmitida por el saltahoja *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott). En: Fitopatología. Vol. 9 (Oct., 1974); p. 94

Varon Y Martínez, manifiestan que. “En estudios serológicos indican que la mayor concentración del virus se encuentra en hojas sintomáticas y sus entrenudos correspondientes produciendo pecas cloróticas a lo largo de las nervaduras que se fusionan formando rayas cloróticas”.¹⁵

1.2.5 Virus del Bandeado del Maíz (MStpV). “El virus no se transmite mecánicamente ni por semilla pero si por el delfácido *Peregrinus maidis* durante todo su ciclo de vida y en forma transovárica, siendo capaz de adquirir y transmitir la enfermedad entre 8 y 21 días después de la inoculación”¹⁶

Martínez y Varón de Agudelo concuerdan en que:

Los síntomas se caracterizan por la presencia de pequeñas rayas cloróticas en la base de las hojas jóvenes que se unen y llegan a formar rayas gruesas a medida que la planta crece; en plantas jóvenes se presenta acortamiento de entrenudos, marcado enanismo, pérdida de vigor y doblamiento del cogollo produciendo muerte prematura de plantas y las que sobreviven no llegan a producir mazorca.¹⁷

1.2.6. Virus del Rayado del Maíz (MSV). “El virus se transmite por cinco especies de salta hojas del género *Cicadulina* siendo el más importante *C. mbila*. Las partículas del virus son isométricas con 20 nm de diámetro y frecuentemente ocurre en pares que miden 20 x 30 nm”¹⁸

En cuanto a la sintomatología presentada Shurtleff afirma que:

Estos consisten en manchas pequeñas redondas y aisladas que se presentan en las hojas más jóvenes aumentando con el crecimiento de la planta, la infección en hojas desarrolladas muestra una clorosis con rayas discontinuas amarillas a lo largo de las nervaduras reduciendo la distancia de los entrenudos del tallo y tamaño de la hoja drásticamente produciendo mazorcas pobremente llenas o vanas¹⁹.

¹⁵ RICO DE CUJIA, L. Relación entre la presencia de síntomas y la concentración del virus del Rayado colombiano del maíz en plantas afectadas. En: Fitopatología Colombiana. Vol. 1 (Jun., 1980); p.19.

¹⁶ VARON DE AGUDELO, Francia. y MARTNEZ, Gerardo. La raya gruesa del maíz: Un rhabdovirus transmitido por *Peregrinus maidis*. En : CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN COLOMBIANA DE FITOPATOLOGUIA ASCOLFI. (5º : 1982 : Cali). Ponencias del V congreso de la Asociación Colombiana de Fitopatología ASCOLFI. Cali : ASCOLFI, 1982. p.3.

¹⁷ MARTINEZ, Gerardo y VARON DE AGUDELO, Francia. Op.cit., p. 72.

¹⁸ SHURTLEFF, Malcolm. Compendium of corn diseases. New York : The American Phytopathological Society, 1992. p.65

¹⁹ Ibid. p. 66.

1.2.7 Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar (SCMV). Morales manifiesta que:

El virus puede ser transmitido mecánicamente, por semilla y por insectos de las especies *Rhopalosiphum maidis*, *Myzus persicae* y *Aphis gossypii* con un periodo de incubación en la planta de 4 a 12 días transmitiendo el virus inmediatamente después de la alimentación; tiene una Longevidad In vitro entre 2 y 4 días, un Punto termal de inactivación de 60°C y un Punto final de dilución que oscila entre 10^{-2} y 10^{-4} las partículas son de forma filamentosas flexuosas tienen un tamaño 760 nm de largo y 12 a 13 nm de diámetro²⁰

Varón de Agudelo dice que :

La enfermedad se manifiesta con la presencia de un leve moteado con diferentes tonalidades que progresan a manchas color verde intenso alternado con áreas blanquecinas, también se presentan estrías paralelas a la nervadura central de color amarillo, la infección no afecta aparentemente la altura de la planta, pero la producción de grano se llega a reducir en forma significativa.

Se han encontrado malezas hospedantes del virus tales como *Echinochloa colonum*, *Rottboellia exaltata*, *Sorghum vulgare* y *S. halepense*, las cuales, junto con la caña de azúcar, son las principales fuentes de inóculo y diseminación hacia el maíz²¹.

1.2.8 Virus del Moteado Clorótico del Maíz (MCMV)

En cuanto a las propiedades del virus Cordoba et al expresan que:

El virus tiene forma isométrica y 30 nm de diámetro, se transmite mecánicamente, por semilla y por varios Chrysomelidos como *Chaetocnema pulicaria* y *Diabrotica sp* con un periodo de adquisición de 24 horas y de retención de 3 a 5 días; posee un punto de inactivación térmica entre 75-80°C, punto final de dilución 10^{-5} a 10^{-8} y longevidad In vitro de 31 días a temperatura de 20°C²²

²⁰ MORALES, Francisco. Op.cit., p. 201

²¹ VARON DE AGUDELO, Francia. Op.cit., p. 28-29

²² CORDOBA, Carlos *et al.* Situación fitosanitaria del maíz (*Zea mays* L) en el Valle del Cauca. En : Fitopatología Colombiana. Vol. 23, No.1 (Jun, 1999); p. 36

Córdoba, et al., manifiestan que:

Los síntomas inician en la planta con la aparición de puntos cloróticos en la base de la hoja, los cuales se unen hasta formar rayas pequeñas que dan lugar a un mosaico que se distribuye regularmente en toda la hoja; los mosaicos dan lugar a puntos necróticos, principalmente en los bordes de las hojas y avanzan hacia el centro, existe enanismo debido al acortamiento de entrenudos, endurecimiento de la espiga y deformación de mazorcas que carecen de granos²³.

1.2.9 Virus del Enanismo Clorótico del Maíz (MCDV) Shurtleff indica que:

“El virus tiene forma isométrica, con 31 nm de diámetro, se transmite por el salto de hojas *Graminella nigrifrons* y *G. sonora* de manera semi persistente, después de adquirir el virus en las plantas infectadas las ninfas y adultos se alimentan por 48 horas para volverse virulentos”

Los síntomas se manifiestan con pequeñas manchas cloróticas que posteriormente despliegan una clorosis general en las hojas del cogollo, las plantas quedan subdesarrolladas debido al acortamiento de entrenudos después de la floración y las hojas pueden adquirir una coloración amarilla o rojiza; algunos hospedantes incluyen al sorgo de grano, trigo, especies del género *Setaria* y principalmente el pasto Johnson²⁴.

1.3 DISTURBIOS OCASIONADOS POR FITOPLASMAS EN EL CULTIVO DE MAÍZ

Respecto a las enfermedades asociadas con virus, Bascopé expresa que

Muchas de éstas, que en el pasado se suponía eran producidas por éstos patógenos, hoy resultan ser causadas por organismos llamados fitoplasmas, descritos como cuerpos pleomórficos, sin pared celular, pero rodeados de una membrana, su diámetro varía mucho y están formados por un enrejado de hebras de ADN y áreas con gránulos semejantes a ribosomas. Estos organismos se propagan por fisión binaria, gemación o fragmentación y son los procariontes más pequeños capaces de replicarse en forma autónoma²⁵.

²³ Ibid., p.37

²⁴ SHURTLEFF, Malcolm, Op.cit., p. 63

²⁵ BASCOPÉ, Benigno. Bacterias y fitoplasmas. En: I Curso Internacional Sobre Diagnóstico y Enfermedades en Maíz. Cochabamba : CIMMYT, 1997. p.43

“En el maíz, el Achaparramiento es el disturbio más importante que se pueda atribuir a fitoplasmas, diferenciándose dos agentes causales: el tipo "M" y el tipo "S" ”²⁶

1.3.1 Achaparramiento tipo "M" o Enanismo arbustivo del maíz. Varón de Agudelo señala que: “los síntomas presentan una clorosis de las hojas jóvenes que avanzan a una tonalidad rojiza o púrpura; además se observa un macollamiento excesivo de las plantas y disminución de tamaño manifestada por el acortamiento de entrenudos y una drástica reducción del sistema radical, además de la producción de mazorcas estériles”²⁷

1.3.2 Achaparramiento tipo "S" o Achaparramiento del maíz. Según SANINET:

El disturbio se atribuye al *Spiroplasma kunkelii* y se caracteriza por formación de áreas cloróticas en la base de las hojas, para después formar bandas amarillas al cual le sigue un enrojecimiento de los márgenes, y posteriormente se extiende a la vena principal, también existe enanismo por el acortamiento de entrenudos y mazorcas estériles así como una ramificación excesiva de las raíces²⁸.

Castillo afirma que: “En los dos tipos, los síntomas se manifiestan desde los 40 a 45 días después de la germinación de la plántula con mayor incidencia y severidad en la etapa de floración”²⁹.

De León, citado por Zúñiga, manifiesta que: “Los dos tipos de achaparramiento no se transmiten mecánicamente pero si por insectos vectores como *Dalbulus maidis*, *D. elimatus* y *Graminella nigrifrons*, en tanto que el tipo S puede ser transmitido también por *Exitianus exitiosus* y *Stirellus bicolor* con un período de adquisición por los vectores de 72 horas y uno de incubación de 14 a 21 días”³⁰.

²⁶ Ibid., p .45

²⁷ VARON DE AGUDELO, Francia *et al.* Achaparramiento del maíz *Zea mays* L. en el Valle del Cauca. En: Fitopatología Colombiana, Vol. 25, No. 2 (Jul, 2001); p. 86.

²⁸ SANINET. Achaparramiento del maíz. [en línea] s.f. [citado 23 nov., 2004]. Disponible en Internet : <URL : <http://www.iicasaninet.net>>.

²⁹ CASTILLO, Germán. Estudios biológicos del achaparramiento del maíz en el Valle del Cauca. En : CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN COLOMBIANA DE FITOPATOLOGUIA ASCOLFI. (6º : 1999 : Manizales). Memorias del VI Congreso de la Asociación colombiana de Fitopatología ASCOLFI. Manizales : ASCOLFI, 1999. p. 15.

³⁰ ZUÑIGA, Boris. Estudio de la relación hongo - virus en la presencia del amarillamiento del maíz *Zea mays* L en el Valle de Sibundoy. Pasto, 1991, 15 p. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo). Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas .

1.4 IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LOS VIRUS EN EL CULTIVO DE MAIZ

Respecto a las pérdidas ocasionadas por enfermedades virales Matthews manifiesta que: “es difícil cuantificarlas pues éstas varían de acuerdo con la incidencia y severidad de la enfermedad, la localidad, la variedad sembrada, las razas del virus, la actividad de vectores, la relación entre la infección y el estado fenológico y nutricional del cultivo así como las condiciones ambientales y la presencia de otros parásitos”³¹.

Domínguez y Cárdenas afirman que: “En el cultivo del maíz las pérdidas ocasionadas por virus no solo radican en la disminución de los rendimientos sino también en la muerte de plantas pues éstas son afectadas en los primeros estados de desarrollo y aquellas que sobreviven generalmente no alcanzan a formar mazorca”³².

En cuanto a la determinación de las pérdidas causadas por virus en el cultivo de maíz Varón de Agudelo y Martínez aseguran que: “han hecho estudios en diferentes materiales con plantas que presentan los síntomas típicos de cada virus y plantas aparentemente sanas durante todo el periodo vegetativo; dichas pérdidas pueden variar aproximadamente entre un 50 a un 90%”³³

1.5 METODOS DE INVESTIGACION EN VIROLOGIA VEGETAL

1.5.1 Transmisión mecánica. Según Lawson:

El procedimiento consiste en obtener tejidos sintomáticos de plantas y hacer una maceración en un mortero previamente refrigerado y en presencia de una sustancia tampón, como fosfato de potasio, Boratos, pvp o pvpv en proporción 1:1 (V/V), se prueban diferentes valores de pH de la solución tampón desde 7, subiendo en décimas hasta 8; de igual forma concentraciones molares desde 0,05 M hasta 0,1M para buscar el punto óptimo de eficiencia de transmisión

“Una vez obtenido el jugo se inocula en las hojas de las plantas que se quiere transmitir el virus, las cuales deben ser asperjadas con un abrasivo para causar laceraciones y permitir que el virus infecte. Una vez inoculadas las hojas, se lavan y se marcan con cinta para posteriores evaluaciones”³⁴

³¹ MATTHEWS, G. Plant Virology. New Cork : Academia, 1991. p. 603.

³² DOMINGUEZ, J. y CARDENAS, A. Op.cit., p. 101-102

³³ VARON DE AGUDELO, Francia. y MARTNEZ, Gerardo. Op.cit., p.1.

³⁴ LAWSON, Roger. Transmission of plant viruses : Loebenstein, Gad; LAWSON, Roger y BRUNT, Alan. Virus and virus-like diseases of bulb and flower crops. New York : John Wiley and sons, 1995. p. 117

1.5.2 Transmisión por insectos. Matthews afirma que: “En lotes donde se presenta el problema se recolectan diferentes especies de insectos asociados con el cultivo en estudio, los insectos se colectan de plantas sintomáticas, se capturan con un aspirador de plástico y se transportan a un sitio seguro”³⁵.

Para las pruebas de transmisión Matthews manifiesta que:

Una vez obtenidas las colonias libres de virus se toman diferentes grupos de individuos y se pueden dejar en períodos de ayuno si se trata de virus no persistente o semi persistentes, para aumentar la eficiencia de transmisión, previos a la adquisición; se pueden probar tiempos de adquisición sobre las plantas enfermas; luego con un pincel de punta fina se llevan los insectos a las plantas sanas que se quiere probar, se pueden emplear diferentes tiempos de inoculación dependiendo del tipo de relación del insecto y el virus. Enseguida los insectos se eliminan con un insecticida para posteriormente hacer las evaluaciones correspondientes³⁶.

1.5.3 Transmisión por semilla. De igual forma, Matthews afirma que

Se deben cosechar frutos de plantas sintomáticas, para extraer las semillas cuidadosamente y sembrarlas en bolsas plásticas, con suelo esterilizado, para mantener plantas en invernadero durante dos meses. Se realizan evaluaciones semanales para mirar si hay aparición de síntomas, además se tienen en cuenta las medidas necesarias para mantener el lugar libre de insectos vectores de virus, también las plantas se deben fertilizar para evitar confundir los síntomas con alguna deficiencia nutricional³⁷.

1.6 PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS DE LOS VIRUS

1.6.1 Punto final de dilución (PFD). Dijkstra y De Jager afirman que: “Es la dilución más alta de savia de un virus infectado en una planta que todavía es infecciosa, normalmente se da como el rango entre esta dilución y la próxima en que la infectividad se pierde. El agua es un diluyente recomendado y la dilución se realiza comúnmente en escala logarítmica 1/1, 1/10, 1/100..hasta 1/10.000.000 y cada dilución deberá ser frotada sobre igual número de plantas”³⁸.

³⁵ MATTHEWS, R., Op. Cit. p. 525

³⁶ Ibid, p. 465.

³⁷ Ibid, p. 339.

³⁸ DIJKSTRA, Jeanne y DE JAGER, Cess. Practical plant virology. New York : Pro Edit, 1998. p.100.

1.6.2 Longevidad In vitro (LIV). “Es el tiempo durante el cual el virus conserva su poder infectivo fuera de las células a temperatura ambiente ó a 4 grados centígrados. Las pruebas para establecer la longevidad In vitro se practican generalmente con savia recién extraída y almacenada en envases taponados”³⁹

1.6.3 Punto termal de inactivación (PTI). Para Dijkstra y De Jager

Es la temperatura requerida para la completa inactivación del virus que se halla presente en jugo crudo no tratado y es expuesto durante diez minutos; aún en concentraciones altas del virus, el pH y la presencia de otros materiales pueden afectar el punto termal de inactivación, las cualidades físicas y químicas del virus son las que deciden fundamentalmente su resistencia a temperaturas altas, se pueden emplear temperaturas de 5 ó 10 grados centígrados, pero la segunda vez se puede emplear intervalos de 2° C.⁴⁰

³⁹ Ibid, p. 100.

⁴⁰ Ibid, p. 100

2. DISEÑO METODOLOGICO

2.1 LOCALIZACIÓN

La investigación se realizó bajo condiciones de invernadero en la Universidad de Nariño – Torobajo, (Pasto, Nariño) ubicado a 2454 msnm, con temperatura promedio de 16°C así como en el laboratorio de entomología, además, se contó con la colaboración del Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT (Palmira-Valle), Unidad de Virología.

2.2 FUENTE DE INÓCULO

En la vereda San Germán, municipio de Guaitarilla, departamento de Nariño, se identificaron plantas de maíz con síntomas como moteados leves en la base de hojas jóvenes, bandas cloróticas irregulares paralelas a las nervaduras y manchas cloróticas (Figura 1).

De ellas, se tomaron muestras foliares que fueron recubiertas con papel toalla y colocadas en bolsas de aluminio para ser llevadas al invernadero de la Universidad de Nariño y utilizadas en las pruebas de transmisión.

2.3 PROCESAMIENTO ESTADISTICO

Teniendo en cuenta que el trabajo determinó la etiología de una enfermedad, los resultados se presentan como porcentajes y en el caso de las propiedades físico-químicas se efectuaron análisis de varianza así como pruebas de correlación y regresiones lineales.

2.4 TRANSMISIÓN MECÁNICA

Siguiendo la metodología descrita por Lawson

Se seleccionaron hojas tiernas de plantas de maíz con síntomas del disturbio para dividir las en pequeños pedazos y macerarlos en un mortero de porcelana adicionando agua esterilizada en proporción 1:1 (p/v) a fin de obtener savia la cual fue frotada suavemente sobre la superficie de las hojas de 50 plantas jóvenes de maíz previamente espolvoreadas con carborundum de 600 mallas⁴¹.

Se conformó un testigo con otras 50 plantas las cuales fueron espolvoreadas con el abrasivo y frotadas sólo con agua, enseguida se hizo un lavado de los tejidos

⁴¹ LAWSON, Roger., Op. Cit. p.117

inoculados atomizando las plantas con agua corriente y se determinaron los días de la aparición de los primeros síntomas, así como el número de plantas afectadas y una descripción de la sintomatología presentada.

Figura 1. Síntomas registrados en plantas de maíz, en condiciones de campo, cultivos localizados en el municipio de Guaitarilla y la vereda San Germán, a) Punteado clorótico en la base de las hojas. b) Bandeado clorótico desuniforme paralelo a las nervaduras c) Planta enana por acortamiento de entrenudos; d) Plantas con estado avanzado de la enfermedad.



a



b



c



d

2.5 MULTIPLICACION DE HOSPEDANTES ALTERNOS Y PLANTAS INDICADORAS

En condiciones de invernadero se sembraron plantas de Trigo (*Triticum vulgare*), Cebada (*Hordeum vulgare*), Triticale (*Triticum secale*), Avena (*Avena sativa*), Raigrass Aubade (*Lolium multiflorum*), Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*), Jurillo (*Paspalum hirtum*) Pasto brasilero (*Phalaris* sp.) y maicillo (*Paspalum prostratum*) y de igual forma, plantas indicadoras de virus tales como Tabaco (*Nicotiana tabacum*), Frijol (*Phaseolus vulgaris*) Quinoa (*Chenopodium quinoa*), Pepino (*Cucumis sativum*) y Tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum*) en número de 45 por especie.

Estas plantas se multiplicaron por semilla sexual y asexual, según la especie, en materos y bolsas de 2 Kg con suelo en proporción de 3 -1 de tierra y arena y fueron conservadas en invernadero antes y después de la inoculación fertilizándolas con 2 gramos de un abono compuesto balanceado (12-12-17-2) y riego diario.

Veinte días después de la germinación se inocularon en forma mecánica con savia recién extraída de plantas de maíz infectadas, dejando 10 plantas como testigo por cada especie, las cuales se inocularon con agua destilada.

Se hicieron observaciones cada dos días durante dos meses a fin de identificar cual (es) de ellas expresaban síntomas relacionados disturbio así como el número de plantas afectadas y el tiempo de aparición de los primeros síntomas.

2.6 DETERMINACION DE LAS PROPIEDADES FÍSICO – QUÍMICAS DEL IRUS

Una vez comprobada la transmisión mecánica se procedió a determinar el punto final de dilución, la longevidad in vitro y el punto termal de inactivación, siguiendo la metodología de Dijkstra y De Jager, descrita a continuación:

2.6.1 Longevidad in vitro (LIV). Se extrajo savia de tejidos foliares de plantas de maíz con síntomas iniciales, llevando a tubos de ensayo limpios en un volumen de 10 ml por tratamiento, los cuales se taparon con papel aluminio y se mantuvieron en condiciones de laboratorio. Se hizo transmisión después de 0, 10, 20, 30, 40 y 50 días de extraída la savia mediante transmisión mecánica con 30 plantas sanas y jóvenes de maíz por tiempo de almacenamiento. Al obtener el rango de días de aparición de síntomas se trabajó con intervalos de un día de almacenamiento de savia contaminada para determinar el tiempo exacto de actividad del virus fuera de una célula viva.

2.6.2 Punto final de dilución (PFD). Se tomaron 10 ml de savia infectada y se inocularon mecánicamente las plantas conformando la dilución 10^0 ; de ésta, se tomó un ml y se diluyó en 9 ml. de agua

formando la dilución 10^{-1} , de aquí se tomó un ml y se diluyó en 9 ml. de agua obteniendo la dilución 10^{-2} y se hicieron nuevas diluciones en forma sucesiva hasta llegar a la dilución 10^{-8} , inoculando 30 plantas jóvenes y sanas de maíz por dilución determinando el tiempo de aparición de síntomas y el número de plantas enfermas.

2.6.3 Punto termal de inactivación (PTI). Se tomaron tubos de ensayo con 10 ml de savia extraída de plantas enfermas, se calentaron en baño maría durante diez minutos a 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, y 80°C enfriando rápidamente con agua corriente para hacer la transmisión mecánica en 10 plantas jóvenes y sanas de maíz por temperatura. Al obtener las temperaturas a las cuales se presentan los síntomas y a la cual se pierden posteriormente, se trabajó con rangos de 1°C con 30 plantas por grado de temperatura determinando el número de plantas enfermas, el tiempo de aparición de síntomas y en forma exacta, la temperatura a la cual el virus se inactiva.⁴²

2.7 TRANSMISIÓN POR INSECTOS

Bustillo y Sánchez “Los áfidos son hasta el presente el grupo de artrópodos más importantes en la transmisión de virus patógenicos a plantas, se estima que entre un 80-90% de las virosis vegetales son transmitidas por estos insectos”⁴³.

Por lo anteriormente citado y por haber sido los insectos que se encontraron en mayor cantidad al momento de inspeccionar cultivos de maíz donde se presenta el problema, se colectaron áfidos que se transportaron hacia el invernadero de la Universidad de Nariño – Torobajo para ser mantenidos en plantas sanas de maíz.

Con el fin de obtener colonias libres de virus los insectos fueron cuidadosamente retirados de las plantas con ayuda de un pincel fino y colocados en cajas de Petri con un trozo de hoja de maíz sana sobre papel filtro humedecido. En cuanto hubo crías, los insectos iniciales fueron retirados de las cajas de petri y se conservaron los individuos recién paridos a partir de los cuales se obtuvieron áfidos en cantidades suficientes.

Para las pruebas de transmisión se siguió la metodología descrita por Matthews según la cual:

Se tomaron grupos de 1, 3, 5 y 10 individuos que se dejaron en cajas Petri con papel toalla humedecido con el fin de que cumplieran un período de ayuno de 20 minutos, anterior a la adquisición del virus.

⁴² DIJKSTRA y DE JAGER, Op.cit. p. 100 – 101

⁴³ BUSTILLO, Alex y SANCHEZ, Guillermo. Los áfidos en Colombia, plagas que afectan los cultivos agrícolas de importancia económica. Bogotá : ICA-Colciencias, 1981, p. 1.

Después, los insectos se trasladaron con un pincel de punta fina hacia las plantas enfermas y una vez se apreciaba la inserción del estilete en el tejido se probaron tiempos de adquisición de uno, tres y cinco minutos⁴⁴.

Enseguida se realizaron las pruebas de transmisión colocando los áfidos al alcance de plantas jóvenes y sanas de maíz morocho amarillo con 36 plantas por cada uno de los siguientes tratamientos: un insecto, tres insectos, cinco insectos y diez insectos.

2.8 IDENTIFICACION DEL VECTOR

Una vez obtenida la transmisión por áfidos se realizó la identificación del vector en el Laboratorio de Entomología de la Universidad de Nariño; con la ayuda de un estereoscopio y utilizando un medio Hoyers para la fijación de áfidos, se reconocieron individuos ápteros teniendo en cuenta las claves descritas por Bustillo y Sánchez⁴⁵.

2.9 TRANSMISIÓN POR SEMILLA

En lotes de maíz donde se presenta el disturbio se marcaron plantas sintomáticas de las cuales se colectaron mazorcas, las cuales fueron secadas en un lugar abierto y ventilado.

De las mazorcas obtenidas se desgranaron y seleccionaron 80 semillas las cuales fueron sembradas en bolsas plásticas de 2 Kg y se hicieron observaciones cada dos días durante un periodo de dos meses después de la germinación para ver si se presentaban síntomas así como el tiempo de aparición y el número de plantas que los llegaron a manifestar.

Las plantas se mantuvieron teniendo en cuenta las precauciones necesarias para evitar inoculaciones accidentales y fueron fertilizadas con un abono compuesto balanceado (12-12-17-2) a razón de tres gramos por planta y regadas periódicamente.

La incidencia en pruebas de transmisión y propiedades físico - químicas se determinó mediante la siguiente fórmula:

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

⁴⁴ MATTHEWS, R. Op.cit. p. 339

⁴⁵ BUSTILLO, Alex y SANCHEZ, Guillermo. Op.cit. p. 78

2.10 PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

Luego de la transmisión del virus a las plantas potenciales indicadoras y, para completar las pruebas de patogenicidad, se tomaron plantas sintomáticas de maíz y trigo y se repitió la transmisión mecánica nuevamente hacia plantas jóvenes y sanas de maíz en número de 35 para verificar que se trataba del mismo patógeno.

2.11 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

Muestras de tejidos sintomáticos procedentes de plantas de maíz se enviaron al Centro Internacional de Agricultura Tropical, (CIAT) Palmira, para determinar la presencia, forma y tamaño de las partículas del virus, mediante observación al microscopio electrónico, con la técnica de tinción negativa.

3. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

3.1 TRANSMISION MECANICA Y RANGO DE HOSPEDANTES

Los síntomas de la enfermedad se mostraron en forma sistémica inicialmente en las hojas jóvenes de plantas de maíz hasta obtener una distribución generalizada, en todas las hojas manifestando un moteado suave que termina cubriendo la totalidad del área foliar progresando a bandas cloróticas gruesas e irregulares paralelas a las nervaduras de las hojas que surgen desde la base hasta el ápice llegando a producir necrosis así como acortamiento de entrenudos no presente en todas las plantas sintomáticas (Figura 2).

En pruebas de transmisión mecánica de maíz a maíz el macerado no se hizo en presencia de alguna sustancia tampón obteniendo una eficiencia siempre superior al 78% (Cuadro 1); el período de incubación del virus fue de 11 a 15 días, encontrándose síntomas iniciales tales como pequeños puntos cloróticos en la base de hojas nuevas con visible detención en el crecimiento

Cuadro 1. Eficiencia de la transmisión mecánica del virus en diferentes especies de plantas

Especie	Plantas inoculadas	Plantas afectadas (+) (-)	Eficiencia de transmisión (%)
Maíz	50	39/11	78,00
Trigo	35	9/26	25,71
Maicillo	35	0/35	0,0
Cebada	35	0/35	0,0
Avena	35	0/35	0,0
Triticale	35	0/35	0,0
Aubade	35	0/35	0,0
Pasto brasilero	35	0/35	0,0
Jurillo	35	0/35	0,0
Kikuyo	35	0/35	0,0
Tabaco	35	0/35	0,0
Frijol	35	0/35	0,0
Tomate de mesa	35	0/35	0,0
Quinua	35	0/35	0,0
Pepino	35	0/35	0,0

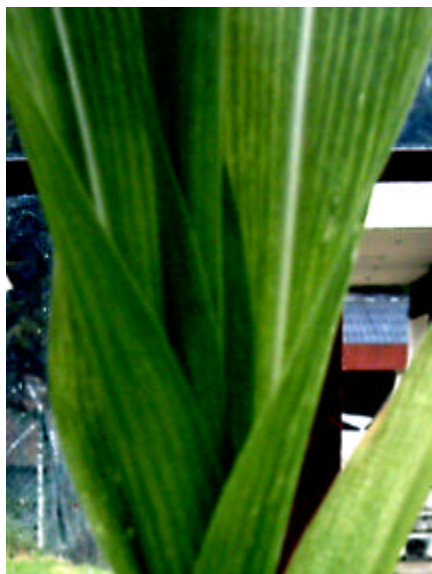
Figura 2. Síntomas presentados en plantas de maíz, bajo condiciones de invernadero por medio de transmisión mecánica. a) Moteado clorótico en la base de las hojas b) Hojas con manchas cloróticas en estado avanzado. c) Bandeado irregular paralelo a las nervaduras de la hoja; d) Detención en el crecimiento evidenciado por el acortamiento de entrenudos.



a



b



c



d

Debido a la alta eficiencia obtenida en las primeras pruebas de transmisión en ausencia de sustancias tampón se decidió no utilizarlas para las posteriores pruebas de transmisión debido a que éstas son utilizadas cuando la eficiencia de transmisión es muy baja.

Cabe anotar que en Colombia el Virus del Moteado Clorótico (MCMV), así como el Virus del Mosaico Enanizante (MCMV) y el Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar (SCMV) son las únicas enfermedades de etiología viral en maíz cuya transmisión es posible en forma mecánica, sin embargo, la sintomatología manifestada por los anteriores disturbios difiere consistentemente del virus en estudio en virtud de que:

Este presenta un bandeado mucho más ancho y prolongado que el producido por el Virus del Moteado Clorótico del Maíz, en el cual según Córdoba, et al. "Sólo se forman rayas cloróticas cortas que no necesariamente se crean desde la base de las hojas y dan lugar a mosaicos que no necrozan la lámina foliar uniformemente"⁴⁶.

Es característica principal del virus estudiado, la presencia de bandas cloróticas anchas que se elongan desde la base hasta el ápice de las hojas y un acortamiento de entrenudos medianamente agresivo que no se presenta en todas las plantas afectadas, situaciones que no ocurren con el Virus del Mosaico Enanizante del Maíz donde según Morales "es característica principal la violenta detención en el crecimiento y la presencia de anillos color verde oscuro en las hojas"⁴⁷.

El virus en estudio presenta distintos niveles de detención en el crecimiento de algunas plantas afectadas a diferencia del Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar donde según Varón de Agudelo⁵⁰ "El crecimiento de la planta no se ve afectado, pero además de la presencia de deformaciones y estrías color amarillo paralelas a las nervaduras"⁴⁸.

La alta eficiencia en la transmisión mecánica del virus permite destacar la necesidad de capacitar a los productores locales en la detección temprana del disturbio a fin de reducir la cantidad de inóculo al interior de los lotes por medio del raleo de plantas sintomáticas ya que en la mayoría de localidades dentro del área de investigación se acostumbra sembrar en número de dos a tres semillas por sitio y el continuo rozamiento entre plantas podría producir pérdidas en la producción de todas las plantas de un sitio.

⁴⁶ CORDOBA, Carlos, et al. Op.cit. p.36

⁴⁷ MORALES, Francisco. Op.cit. p.22.

⁴⁸ VARON DE AGUDELO, Francia. Op.cit. p. 28

3.2 HOSPEDANTES ALTERNOS Y PLANTAS INDICADORAS

El virus registrado en maíz es de fácil transmisión mecánica y, en pruebas de transmisión de maíz a trigo, la eficiencia fue del 25.71% (Cuadro 1), el período de incubación fue de 21 días mientras que en las demás especies probadas como el tabaco, frijol, pepino, tomate de mesa, quinua, avena, triticale, aubade, cebada, maicillo, jurillo y kikuyo no se presentaron síntomas.

El trigo presentó síntomas como un leve moteado con puntos cloróticos en la gran mayoría de las hojas (Figura 3), o sea que, el trigo puede utilizarse como planta indicadora del virus o como planta de diagnóstico, además se puede tener en cuenta para la multiplicación y conservación del mismo.

Respecto a la especificidad en los hospedantes de un virus, Matthews, citado por Garavito asegura que “En la naturaleza se da una restricción en los posibles hospederos de un virus estableciendo un rango definido y en ocasiones reducido ya que las plantas frente a un virus pueden ser inmunes o no hospederas por la ausencia o incompatibilidad de los factores necesarios para llevar a cabo el ciclo viral, o bien, pueden actuar activamente para eliminar o contrarrestar el patógeno”⁴⁹

El trigo puede ser considerado como una fuente de inóculo y señala la importancia de eliminar plantas espontáneas de trigo en siembras de maíz

Respecto al control de malezas en el cultivo de maíz Ospina

Recomienda en forma manual, realizar dos desyerbas, la primera entre 20 y 30 días y la segunda, entre 50 y 60 días después de la siembra o en forma química, en post-emergencia entre 15 y 20 días mediante la aplicación, preferiblemente, de herbicidas sistémicos selectivos o no selectivos que se pueden dirigir o no, dependiendo del modo de acción, sean, graminicidas o para hoja ancha”⁵⁰.

La Universidad de Idaho⁵³ en su portal de virología vegetal destaca al trigo como:

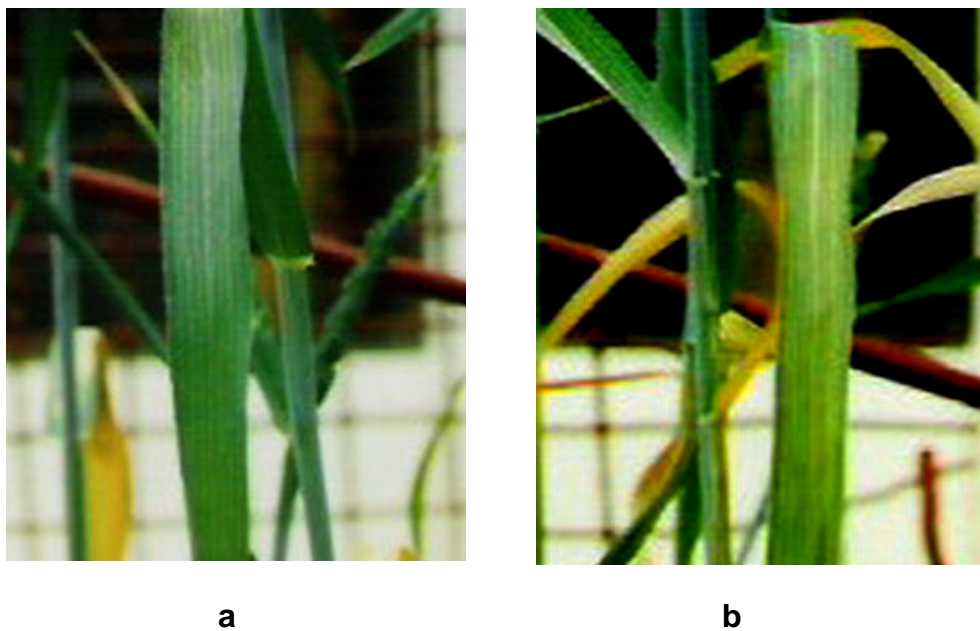
Alternativo, principalmente, del Virus del Rayado del Maíz (MSV), el Virus del Mosaico Común del maíz (MMV), el Virus del Enanismo Clorótico del Maíz (MCDV) y el Virus del Moteado Clorótico del Maíz (MCMV) donde sólo los dos últimos presentan una sintomatología similar a la del virus

⁴⁹ GARAVITO, Andrea. Cómo se defienden las plantas frente a los virus: interacciones y mecanismos moleculares. En: CONGRESO ASCOLFI NUEVAS TENDENCIAS EN FITOPATOLOGÍA. (23^o : 2002 : Bogotá). Ponencias del XXIII Congreso ASCOLFI Nuevas Tendencias en Fitopatología. Bogotá : Panamericana, 2002. p.117

⁵⁰ OSPINA, José. Op.cit., 153-154 p.

en estudio, manifestando puntos cloróticos difusos en la base y zonas intermedias de las hojas hasta producir una necrosis foliar generalizada, en pruebas de transmisión maíz-trigo⁵¹.

Figura 3. Síntomas registrados en invernadero en plantas de trigo a partir de transmisión mecánica. a) presencia de puntos cloróticos las hojas; b) planta con necrosis foliar



3.3 PROPIEDADES FISICO – QUÍMICAS

Las propiedades físico – químicas del virus fueron determinadas en condiciones de invernadero, utilizando semilla de maíz procedente de lotes situados en el área de investigación.

El virus presentó una longevidad *in vitro* de 29 días (Cuadro 2), un punto termal de inactivación de 75°C (Cuadro 3) y un punto final de dilución entre las concentraciones 10^{-4} y 10^{-5} (Cuadro 4) condiciones bajo las cuales, el virus dejó de ser infectivo en las plantas inoculadas, ajustándose a un modelo de regresión lineal (Figura 4),. Los individuos que para cada tratamiento arrojaron resultados positivos presentaron la misma sintomatología a la ya descrita en anteriores pruebas de transmisión

⁵¹ UNIVERSITY OF IDAHO. Op.cit., p. 13

Cuadro 2. Longevidad In vitro del virus en maíz

TIEMPO (DIAS)	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS (+) (-)	EFICIENCIA DE LA TRANSMISION (%)
0 (Testigo)	30	24/6	80,00
10	30	22/8	73,33
20	30	13/17	43,33
21	30	11/19	36,66
22	30	9/21	30,00
23	30	9/21	30,00
24	30	8/22	26,66
25	30	8/22	26,66
26	30	5/25	16,66
27	30	2/28	6,66
28	30	2/28	6,66
29	30	0/30	0,00

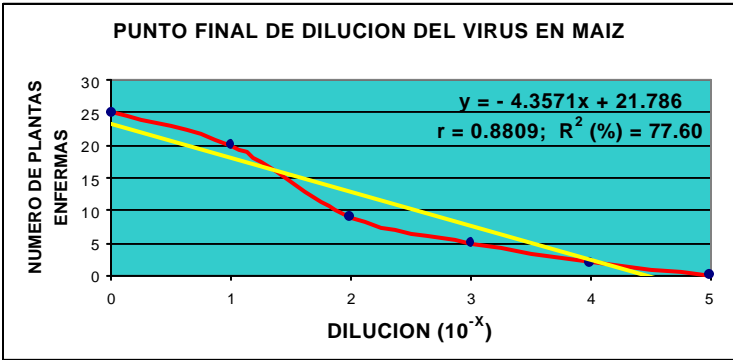
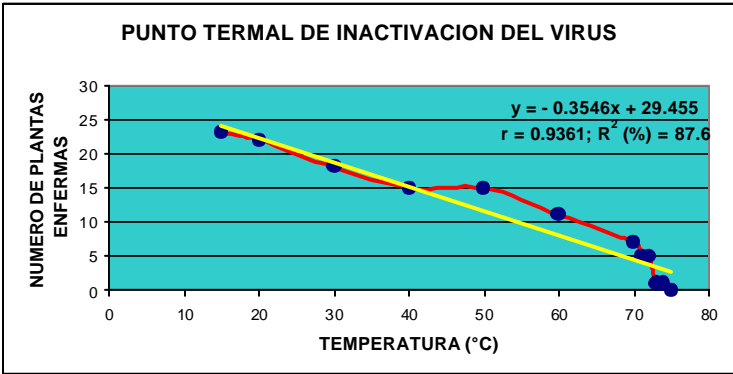
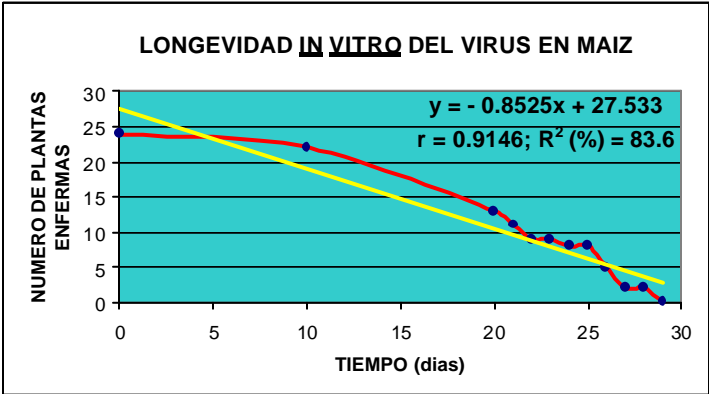
Cuadro 3. Punto termal de inactivación del virus en maíz.

TEMPERATURA (°C)	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS (+) (-)	EFICIENCIA DE TRANSMISION (%)
Testigo (15°C)	30	23/7	76,66
20	30	22/8	73,33
30	30	18/12	60
40	30	15/15	50,00
50	30	15/15	50,00
60	30	11/19	36,66
70	30	7/23	23,33
71	30	5/25	16,66
72	30	5/25	16,66
73	30	1/29	3,33
74	30	1/29	3,33
75	30	0/30	0,00

Cuadro 4. Punto final de dilución del virus en maíz

DILUCIONES	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS (+) (-)	EFICIENCIA DE TRANSMISION (%)
10 ⁰	30	25/5	83,33
10 ⁻¹	30	20/10	66,66
10 ⁻²	30	9/21	30,00
10 ⁻³	30	5/25	16,66
10 ⁻⁴	30	2/28	6,66
10 ⁻⁵	30	0/30	0,00

Figura 4. Curvas de la Longevidad In Vitro, Punto termal de inactivación y Punto final de dilución



Teniendo en cuenta que los valores en cada una de las propiedades físico-químicas se ajustaron a un modelo de regresión lineal simple, donde se comprobó la dependencia entre las variables se estableció que:

Para el caso de la Longividad In vitro el coeficiente de relación “b” de la ecuación lineal indica que por cada día de almacenamiento de la savia infectada, el número de plantas sintomáticas disminuirá 0.8525 veces mientras que el coeficiente “R” de 0.9146 mostró un alto grado de correlación entre los días de almacenamiento y el número de plantas enfermas y el coeficiente de determinación R^2 indicó que el número de plantas enfermas está explicado en un 83.6% por los días de almacenamiento de la savia infectada.

Respecto al Punto termal de inactivación, el coeficiente de relación “b” muestra que por cada grado centígrado incrementado en el calentamiento de savia infectada, el número de plantas con síntomas disminuirá 0.3546 veces; el coeficiente “R” de 0.9361 mostró un alto grado de correlación entre el incremento de la temperatura de la savia, en grados centígrados, y el número de plantas enfermas y el coeficiente de determinación R^2 indicó que el número de plantas enfermas está explicado en un 87.6% por incremento en la temperatura de savia infectada.

Por su parte, en el Punto final de dilución el coeficiente de relación “b” indica que por cada mililitro de savia infectada que se diluya en nueve mililitros de agua, el número de plantas con síntomas se reducirá 4.3571 veces; el coeficiente “R” de 0.8809 manifestó un alto grado de correlación entre el incremento de la dilución de la savia infectada y el número de plantas con síntomas mientras que el coeficiente de determinación R^2 mostró que el número de plantas enfermas está explicado en un 77.6% por incremento en la dilución de savia infectada.

A partir de las propiedades físico-químicas del virus en estudio se ha podido establecer diferencias significativas entre éste y los virus de mayor importancia reportados en maíz, sin embargo, el estudio de estas propiedades se dificulta considerablemente cuando un virus no se transmite en forma mecánica, razón por la cual sólo se analizaron virus cuyas propiedades se encuentran reportadas.

El Virus del Mosaico Enanizante del Maíz (MDMV) así como el Virus del Rayado Fino Colombiano del Maíz (MRFV) y el Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar (SCMV) presentan un Punto final de dilución muy similar a la del virus estudiado ya que todos oscilan entre las diluciones 10^{-4} y 10^{-5} .

Los tres virus señalados poseen un Punto termal de inactivación que oscila entre 54 y 65°C y una longevidad In vitro de 2 a 4 días en tanto que el virus en estudio presenta 75°C y 29 días, en esas mismas escalas, estableciendo una diferencia mínima de 10°C y 25 días respectivamente.

Por otro lado, se presentaron semejanzas importantes entre el virus en estudio y el Virus del Moteado Clorótico del Maíz (MCMV) donde se encontró igual Punto final de dilución y Punto termal de inactivación, así como una diferencia de sólo dos días en la Longevidad In vitro, sin embargo es necesario anotar que existen diferencias significativas entre los dos virus en cuanto a la sintomatología presentada y el tipo de vector.

3.4 TRANSMISION POR INSECTOS

Hubo transmisión del virus por áfidos en forma no persistente, de maíz a maíz, expuestos a un período de ayuno de 20 minutos, con un período de adquisición de 5 minutos y uno de inoculación de 10 minutos, que fueron determinados como los mejores tiempos para lograr una mejor transmisión (Cuadro 5 y 6); se logró una eficiencia del 3.13% cuando se utilizó un áfido, de 9.38% cuando se utilizaron tres áfidos, del 12.5% cuando se utilizaron 5 áfidos y del 15.62% cuando se utilizaron 10 áfidos (Cuadro 7).

También, se hicieron los mismos tratamientos en trigo así como en posibles hospedantes alternos y plantas indicadoras donde los resultados nunca fueron positivos, lo cual puede ser atribuido a la especificidad del virus y su relación con el vector, además de la baja eficiencia de transmisión por insectos.

Los síntomas en maíz se manifestaron en las hojas jóvenes en un período de incubación de 19 y 23 días, presentándose un moteado leve y una clorosis en la base de la hoja que progresó a bandas irregulares sobre la lámina foliar acompañada de una aparente detención en el crecimiento caracterizada por el acortamiento de entrenudos que no se presentó en todas las plantas, coincidiendo con los síntomas observados en campo. (Figura 4).

La transmisión por áfidos del virus en estudio, permite diferenciar y descartar la relación existente con otros de similar sintomatología, tales como el Virus del Moteado Clorótico del Maíz (MCMV) y el Virus del Bandado del Maíz (MStpV), donde la transmisión biológica, según Morales y De León⁵² se realiza por Chrysomélidos de los géneros *Chaetenoma* y *Diabrotica*, y por Delphacidos del género *Peregrinus*, respectivamente.

La transmisión por áfidos, cuya eficiencia fue superior al 15.62% cuando se emplearon 10 insectos representa una situación de riesgo para las zonas productoras de maíz, ya que se pudo establecer la relación de éste insecto con las plantas enfermas en las localidades donde está presente el disturbio.

⁵² MORALES, Francisco y DE LEON, Carlos, Op.cit. p. 30

Cuadro 5. Transmisión del virus por áfidos del género *Rhopalosiphum* en grupos de 10 insectos, en diferentes especies de plantas con un período de inoculación de 10 minutos, un período de ayuno de 20 minutos y diferentes períodos de adquisición.

Especie	Plantas inoculadas	Plantas (+)(-)			Eficiencia de la transmisión (%)		
		Periodo de adquisición en minutos			Periodo de adquisición en minutos		
		1	3	5	1	3	5
Maíz	36	3/33	5/31	6/30	8,33	13,89	16,67
Trigo	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Cebada	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Avena	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Triticale	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Aubade	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Pasto braslero	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Jurillo	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Maicillo	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Kikuyo	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Tabaco	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Frijol	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Tomate de mesa	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Quinua	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0
Pepino	36	0/36	0/36	0/36	0,0	0,0	0,0

Cuadro 6. Transmisión del virus por áfidos del género *Rhopalosiphum* en grupos de 10 insectos, en diferentes especies de plantas con un período de adquisición de 5 minutos, un período de ayuno de 20 minutos y diferentes períodos de inoculación.

Especie	plantas inoculadas	Plantas (+)(-)				Eficiencia de la transmisión (%)			
		Periodo de inoculación en minutos				Periodo de inoculación en minutos			
		1	3	5	10	1	3	5	10
Maíz	36	1/35	4/32	5/31	7/29	2.77	11,11	13.88	19.44
Trigo	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Cebada	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Avena	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Triticale	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Aubade	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Pasto brasilero	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Jurillo	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Maicillo	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Kikuyo	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Tabaco	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Frijol	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Tomate de mesa	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Quinua	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0
Pepino	36	0 /36	0 /36	0 /36	0 /36	0,0	0,0	0,0	0,0

Cuadro 7. Eficiencia de transmisión del virus en maíz por áfidos del género *Rhopalosiphum* en grupos de 1, 3, 5 y 10 por planta con un período de adquisición de 5 minutos y un período de inoculación de 10 minutos y un período de ayuno de 20 minutos.

Número de áfidos	Plantas inoculadas	Plantas (+) (-)	Eficiencia de la transmisión (%)
1	32	1/31	3,13
3	32	3/29	9,38
5	32	4/28	12,50
10	32	5/27	15.62

Figura 5. Síntomas registrados en plantas de maíz bajo condiciones de invernadero a través de transmisión por insectos. a) Bandeado clorótico ascendente desde la base de las hojas; b) Planta con manchas cloróticas dispersas presentes en todas las hojas; c) Acortamiento drástico de entrenudos



a



b



c

La estrecha relación encontrada entre el insecto y su hospedante se debe tener en cuenta para estudios de epidemiología de la enfermedad, ya que la presencia de altas poblaciones de los mismos en cultivos visitados, hace que ésta sea una de las principales formas de diseminación de la enfermedad en el campo.

Por lo anteriormente expresado es necesario destacar la necesidad de que los esfuerzos para evitar la presencia o reducir la incidencia del virus en campo, se encaminen a un oportuno y eficaz control de áfidos en cultivos de maíz.

INFOAGRO explica que: “Las labores culturales que disminuyen la presencia de áfidos en un cultivo incluyen la eliminación de plantas hospedantes, la colocación de trampas cromotrópicas amarillas y la aplicación de riego por aspersión siempre que sea posible; en forma química, el control se realiza mediante la aplicación de insecticidas sistémicos o de contacto, preferiblemente acompañados de un aceite agrícola”⁵³.

Según Stoll citado por Mendoza y Mipaz “existen alternativas de manejo diferentes a las convencionales que incluyen la aplicación de aceites que impiden la respiración del insecto causando asfixia y extractos vegetales con propiedades repelentes e insecticidas útiles en sistemas de producción limpia”⁵⁴.

“Como reguladores naturales de áfidos se citan principalmente como predadores de ninfas y adultos *Colemegilla maculata* y *Cycloneda sanguinea* y como patasitoides *Lysiphlebus testaceipes* y el entomopatógeno *Verticillium lecanicidium*”

3.5 IDENTIFICACION DEL VECTOR

En el laboratorio de Entomología de la Universidad de Nariño, se logró identificar individuos ápteros de color verde oscuro a negro brillante con cornículos de forma cilíndrica con un leve hinchamiento, mas largos que la cauda, antenas largas no completamente oscuras ligeramente más pequeñas que el cuerpo que está cubierto por un polvo fino y unguis hasta tres veces la base del sexto segmento antenal. Teniendo en cuenta las anteriores características se logró determinar al género *Rhopalosiphum* como el vector del virus en estudio.

El CIMMYT destaca que:

Sólo en el Virus del Mosaico Enanizante del Maíz (MDMV) y en el Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar (SCMV) existe transmisión por áfidos en forma no persistente donde se encuentra incluido como vector *Rhopalosiphum maidis* Fitch, con el cual la eficiencia de transmisión de

⁵³ INFOAGRO. Control de áfidos o pulgones. [en línea] Costa Rica. [Citado 15 mar., 2005]. Disponible in Internet: <URL : [http:// www.infoagro.com](http://www.infoagro.com)>

⁵⁴ MENDOZA, Leider y MIPAZ, Beatriz. Evaluación de extractos vegetales de plantas para el control de plagas en papa (*Solanum tuberosum*), frijol (*Phaseolus vulgaris*) y repollo (*Brassica oleraceae*) en la zona andina del departamento de Nariño. Pasto, 2004, p.24. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo) Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas

los virus ha llegado a ser de 55% y 70 respectivamente, a diferencia del virus en estudio, el cual muestra tener una efectividad baja⁵⁵.

3.6 TRANSMISION 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 12.5% ya que de 80 semillas sembradas, 10 presentaron síntomas entre los 28 y 33 días después de la siembra manifestando un moteado suave que progresa desde la base de las hojas jóvenes extendiéndose a todas las hojas hasta conformar bandas cloróticas irregulares, evidenciando una detención en el crecimiento que no se manifestó en todas las plantas sintomáticas (Figura 6).

La anterior, es la variable que mayor preocupación suma si consideramos que la mayoría de productores tradicionales de maíz de la zona, adquieren semilla para siembras posteriores a partir de la cosecha obtenida, con criterios de selección que no son suficientes para la consecución de semilla de calidad, es decir, el desconocimiento de que el virus en estudio es transmitido por semilla permite que el agricultor en forma inconsciente esté llevando la enfermedad al campo.

Aún cuando el virus es transmitido en un porcentaje no mayor al 12.5% es necesario que este hecho sea puesto en conocimiento del productor a fin que éste identifique previamente o durante la cosecha, aquellas mazorcas provenientes de plantas enfermas y no las destine para semilla en siembras futuras.

⁵⁵ CIMMYT. Enfermedades del maíz: una guía para su identificación en campo. [en línea] México . [citado 5 sep., 2004]. Disponible en internet : <URL : http://www.cimmyt.org/spanish/docs/field_guide/Maite/pdf/enfermaiz.pdf>. p. 95.

Figura 6. Síntomas presentados en plantas de maíz bajo condiciones de invernadero a través de transmisión por semilla. a) Moteado clorótico en la base de hojas jóvenes acompañado de manchas irregulares en hojas verdaderas b) Bandas cloróticas ascendentes paralelas a las nervaduras de las hojas;



a



b

Según reportes del CIMMYT: “solamente El virus de la Caña de Azúcar (SCMV), el Virus del Mosaico Enanizante del Maíz (MDMV) y el Virus del Moteado Clorótico del Maíz (MCMV) han mostrado capacidad de transmitirse por semilla con eficiencias bajas que no superan el 10% en todos los casos, semejándose al virus en estudio en el cual la eficiencia del 12.5%”⁵⁶.

3.7 PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

Los resultados logrados en estas pruebas indican que 25 de 35 plantas de maíz (71.42%) inoculadas con savia de trigo infectada, desarrollaron síntomas similares a los encontrados en las otras pruebas de transmisión.

En pruebas de transmisión trigo-maíz, los síntomas recuperados aparecieron entre los 15 y 18 días de la inoculación y se manifestaron como manchas cloróticas muy tenues en la base de las hojas jóvenes que luego se extendieron a todas las hojas produciendo bandeados cloróticos desuniformes y detención en el crecimiento no evidenciado en todas las plantas inoculadas. (Figura 7).

⁵⁶ Ibid., p.95

Al haber hecho pruebas con otros hospedantes así como en plantas indicadoras, sin importar la presencia o no de síntomas en ellas, se determinó que ninguna de ellas era portadora del virus.

Figura 7. Síntomas recuperados a través de transmisión mecánica de trigo a maíz. a) Presencia de manchas cloróticas irregulares generalizadas en la planta; b) formación de bandas cloróticas paralelas a las nervaduras de las hojas.



a



b

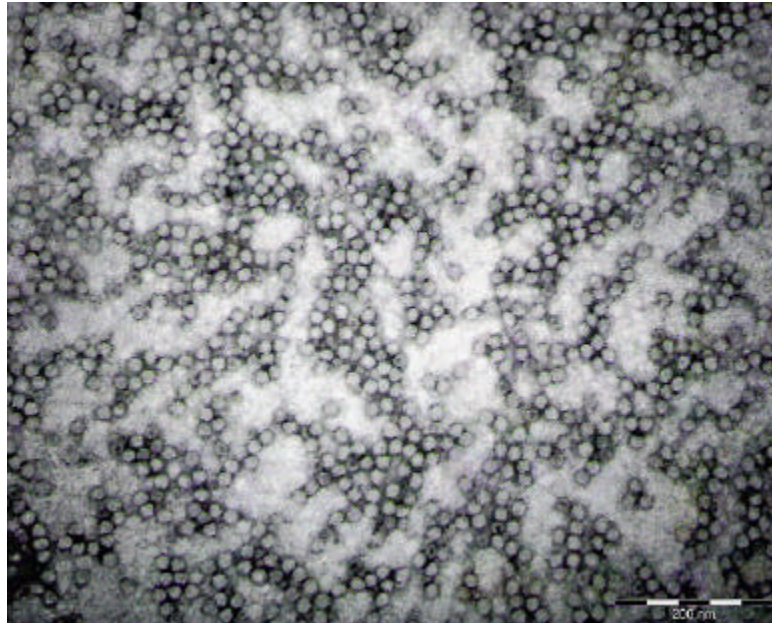
3.8 MICROSCOPIA ELECTRONICA

En el Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, Palmira, Valle, mediante la técnica de tinción negativa, se observaron al microscopio electrónico de transmisión, partículas isométricas de 30 nm, de diámetro presentes en tejidos foliares sintomáticos procedentes de hojas jóvenes de plantas de maíz (Figura 8).

Es importante considerar que el estudio de la forma y tamaño de la partícula viral es un criterio que ayuda a la clasificación de virus, pero sólo la suma de todas sus propiedades permite su ubicación taxonómica

En el cultivo de maíz, el Virus del rayado del Maíz (MSV), el Virus del Rayado Fino del Maíz (MRFV), el Virus del Rayado Fino Colombiano del Maíz (MRCV) y el Virus del Moteado Clorótico del Maíz (MCMV) poseen partículas isométricas con diámetros que oscilan entre 20 y 33 nm, sin embargo, no guardan relación con el virus en estudio debido a otras diferencias ya descritas anteriormente.

Figura 8 Partículas del virus en maíz observadas mediante microscopio electrónico de transmisión.



4. CONCLUSIONES

? El disturbio en maíz reportado en la vereda San Germán, municipio de Guaitarilla es de etiología viral y se transmite en forma mecánica, por áfidos del género *Rhopalociphum*, así como por semilla sexual.

? El estudio comprobó que el trigo es hospedante alternativo del patógeno

? La suma de todas las pruebas realizadas, así como la sintomatología presentada determinaron que se trata de un virus diferente a los estudiados pues no presenta relación específica y completa con alguno de los virus y fitoplasmas ya reportados en maíz en zonas tropicales.

5. RECOMENDACIONES

- ? Realizar estudios que permitan determinar el efecto de la enfermedad sobre la producción de maíz en las localidades afectadas
- ? Determinar la distribución y la incidencia de la enfermedad en zonas maiceras del departamento de Nariño.
- ? Determinar la respuesta de diferentes materiales de maíz al virus.
- ? Realizar estudios moleculares para completar la caracterización del virus y aportar datos para su clasificación taxonómica

BIBLIOGRAFIA

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

BASCOPÉ, Benigno. Bacterias y fitoplasmas. En: I Curso Internacional Sobre Diagnóstico y Enfermedades en Maíz. Cochabamba : CIMMYT, 1997. 94 p.

BAUER, María. Fitopatología. México: Limusa , 1985. 383 p

BUSTILLO, Alex y SANCHEZ, Guillermo. Los áfidos en Colombia, plagas que afectan los cultivos agrícolas de importancia económica. Bogotá : ICA-Colciencias, 1981, 96 p.

CASTILLO, Germán. Estudios biológicos del achaparramiento del maíz en el Valle del Cauca. En : CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN COLOMBIANA DE FITOPATOLOGIA ASCOLFI. (6º : 1999 : Manizales). Memorias del VI Congreso de LA asociación Colombiana de Fitopatología ASCOLFI. Manizales : ASCOLFI, 1999. p. 15.

CIMMYT. Enfermedades del maíz: una guía para su identificación en campo. [en línea] México [citado 5 sep., 2004]. Disponible en internet : <URL : http://www.cimmyt.org/spanish/docs/field_guide/Maite/pdf/enfermaiz.pdf. > 112 p.

CORDOBA, Carlos *et al.* Situación fitosanitaria del maíz (*Zea mays* L) en el Valle del Cauca. En : Fitopatología Colombiana. Vol. 23, No.1 (Jun, 1999); p. 36-38

DE LEON, Carlos. Enfermedades del maíz causadas por hongos. En I Curso Internacional Sobre Diagnóstico y Enfermedades en Maíz. Cochabamba: CIMMYT, 1997. 94 p.

DE LEON, Carlos y MORALES, Francisco. Determinación y efecto de enfermedades virosas en maíz en América del Sur: XXXIII reunión. Panamá : PCCMCA, 1997. p. 28-32

DIJKSTRA, Jeanne y DE JAGER, Cess. Practical plant virology. New York : Pro Edit, 1998. 459 p.

DOMINGUEZ, J y CARDENAS, A. El virus del rayado fino: su efecto en el maíz criollo a distintas épocas de infección. En: Chapingo. Vol. 10, No. 47-49, (1985); p.102-103

GARAVITO, Andrea. Cómo se defienden las plantas frente a los virus: interacciones y mecanismos moleculares. En: CONGRESO ASCOLFI NUEVAS TENDENCIAS EN FITOPATOLOGÍA. (23º : 2002 : Bogotá). Ponencias del XXIII

Congreso ASCOLFI Nuevas Tendencias en Fitopatología. Bogotá : Panamericana, 2002. 138 p.

INFOAGRO. Control de áfidos o pulgones. [en línea]. Costa Rica. [citado 15 mar., 2005]. Disponible in Internet : <URL : [http// www.infoagro.com](http://www.infoagro.com)>.

LAWSON, Roger. Transmission of plant viruses: Loebenstein, Gad; LAWSON, Roger y BRUNT, Alan. Virus and virus-like diseases of bulb and flower crops. New York : John Wiley and sons, 1995. 524 p.

MENDOZA, Leider y MIPAZ, Beatriz. Evaluación de extractos vegetales de plantas para el control de plagas en papa (*Solanum tuberosum*), frijol (*Phaseolus vulgaris*) y repollo (*Brassica oleraceae*) en la zona andina del departamento de Nariño. Pasto, 2004, 103 p. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo) Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas.

MARTÍNEZ LÓPEZ, Gerardo *et al.* Una nueva enfermedad del maíz en Colombia transmitida por el saltahoja *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott). En: Fitopatología. Vol. 9 (Oct., 1974); p. 9-3-94

MARTINEZ, Gerardo y VARON DE AGUDELO, Francia. Observaciones preliminares sobre la transmisión de virus en maíz por *Peregrinus maidis*. En: Revista Colombiana de Entomología. Vol. 6, No. 3-4, (1980); p.72-73

MATTHEWS, G. Plant Virology. New Cork : Academia, 1991. 835 p.

MENDOZA, Leider y MIPAZ, Beatriz. Evaluación de extractos vegetales de plantas para el control de plagas en papa (*Solanum tuberosum*), frijol (*Phaseolus vulgaris*) y repollo (*Brassica oleraceae*) en la zona andina del departamento de Nariño. Pasto, 2004, 24 p. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo) Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas

MORALES, Francisco. Las enfermedades virales del maíz en América del Sur. Reunión de coordinadores de programas de maíz en Sur América. Cali : s.n., 1996. p. 92-96

MORALES, Francisco y DE LEON, Carlos. Diagnóstico de enfermedades virales en maíz. En: I Curso Internacional Sobre Diagnóstico y Enfermedades en Maíz. Cochabamba : CIMMYT, 1997. p. 31-92

NARIÑO. SECRETARIA DE AGRICULTURA. Consolidado Agropecuario acuícola y pesquero: Sección de informática y estadística. San Juan de Pasto : s.n., 2004. 122 p.

OSPINA, José. Tecnología del cultivo de maíz. Santa Fe de Bogotá : Fondo Nacional Cerealista, 1999. 335 p.

RICO DE CUJIA, L. Relación entre la presencia de síntomas y la concentración del virus del Rayado colombiano del maíz en plantas afectadas. En: Fitopatología Colombiana. Vol. 1 (Jun., 1980); p.18-20.

SANINET. Achaparramiento del maíz. [en línea] s.n. s.f. [citado 23 nov., 2004]. Disponible en Internet : <URL : <http://www.iicasaninet.net>>.

SHURTLEFF, Malcolm. Compendium of corn diseases. New York : The American Phytopathological Society, 1992. 120 p

UNIVERSITY OF IDAHO. Plant Viruses [en línea]. Idaho: s.n. Ago. 1996 [citado 12 sep, 2004]. Disponible en Internet : <URL : <http://www.image.fs.uidaho.edu/vide/sppindex.htm#M>>.

VARON DE AGUDELO, Francia. Enfermedades causadas por virus en maíz en el Valle del Cauca. En: ASIAVA. Vol. 6, (Ago.-Sep., 1983); p.27-31.

VARON DE AGUDELO, Francia. y MARTNEZ, Gerardo. La raya gruesa del maíz: Un rhabdovirus transmitido por *Peregrinus maidis*. En : CONGRESO DE LA ASOCIACION COLOMBIANA DE FITOPATOLOGIA. ASCOLFI. (5º : 1982 : Cali). Ponencias del V congreso de la Asociación Colombiana de Fitopatología ASCOLFI. Cali : ASCOLFI, 1982. 123 p.

VARON DE AGUDELO, Francia *et al.* Achaparramiento del maíz *Zea mays* L. en el Valle del Cauca. En: Fitopatología Colombiana, Vol. 25, No. 2 (Jul., 2001); p. 85-89.

ZUÑIGA, Boris. Estudio de la relación hongo - virus en la presencia del amarillamiento del maíz *Zea mays* L en el Valle de Sibundoy. Pasto, 1991, 55 p. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo). Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas.

ANEXOS
ANEXOS

Anexo A. Clave general para las especies de áfidos apteros de Colombia

Con esta clave se puede llegar a la identificación de cualquiera de las 49 especies de áfidos registradas en Colombia. Solamente incluye las formas ápteras que son las más comunes que se encuentran en el campo

1. Cornículos ausentes si están presentes son mamiliformes o sea ligeramente levantados sobre la superficie en el cuerpo.....**2**

Cornículos presentes largos sobresaliendo sobre el cuerpo de forma cilíndrica cónica o clavada**10**

2. Cornículos ausentes.....**3**

Cornículos mamiliformes.....**4**

3. Antenas con 5 segmentos, 1/5 de la longitud del cuerpo***Pemphigus* sp**

Antena con 6 segmentos, 1/3 de la longitud del cuerpo***Asiphoniella daetylonii***

4. Cuerpo en forma de coccido; de color negro con una franja blanca cerosa rodeando la margen del cuerpo; apéndices muy reducidos**5**

Cuerpo no en forma de coccido; no negro, sin margen, Antena más larga que el cuerpo.....**6**

5. Antena con 4 segmentos; con 1.3 pares de pelos cortos, agudos o espatulados sobre el vértex..... ***Cerataphis variabilis***

Antena con 5 segmentos; sin pelos cortos, agudos o espatulados sobre el vértex.....***Cerataphis orcidearum***

6. Pulgones con secreciones cerosas en la extremidad abdominal semejante a lana o algodón que alcanza 3 - 4 mm de largo.....
.....***Eriosoma lanigerum***
Pulgones sin esas secreciones cerosas en la extremidad del abdomen..... 7
7. De color gris oscuro; cuerpo triangular entre los dos cornículos; pico sobrepasando el III par de coxas; pulgones grandes, longitud de cuerpo 2,8 - 5,5m.....**8**
- Pulgones amarillos a marrones; cuerpo no triangular; pico terminado no mas allá del III par de coxas; longitud del cuerpo 1.6 – 2.1 mm**9**
8. Abdomen con un tubérculo dorsal grande en forma de cono; longitud del cuerpo 4,5 – 5,5 mm; en sauce..... ***Tuberolachnus salignus***
- Abdomen sin tubérculo dorsal; longitud del cuerpo 2,8 – 3,2 mm; en coníferas.....***Cinara fresai***
9. Color amarillo, cuerpo plano, con setas largas; en el follaje.....***Shipa flava***
- Color marrón, cuerpo globoso, sin setas largas; en la nariz.....***Tetraneura nigriabdominales***
10. Con un proceso supracaudal en forma de dedo ***Cavariella aego podii***
.....
- Sin proceso supracaudal..... **11**
11. Cornículos con un hinchamiento muy notorio en su mitad..... ***Rhopalosiphoninus tysiphon***
- Corniculos sin hinchamientos notorios en su mitad, si con algún hinchamiento.....**12**
12. Color del áfido velado por un fino polvo ceraceo blanco grisáceo; en crucíferas.....***Brevicoryne brassicae***
- Color del áfido no velado por polvos ceraceos.....**13**

13. Margen frontal cóncavo, con tubérculos antenales laterales desarrollados.....	14
Margen frontal no cóncavo, liso o sinuoso.....	29
14. Cuerpo de color morado, marron oscuro o negro brillante.....	15
Cuerpo de color diferente a morado, marron o negro.....	19
15. Longitud del cuerpo mayor de 2.5 mm.....	16
Longitud del cuerpo menor de 2.5 mm.....	17
16. Cornículos cónicos; pico terminado en el III par de coxas	<i>Urolencon ambrosiae</i>
Cornículos hinchados desde su mitad hacia el ápice; pico terminado entre el II y III par de coxas	<i>Urolencon sonchi</i>
17. Tercer segmento antenal sin sensorias; cornículos con una ligera hinchazón hacia el extremo distal, reborde muy notorio en forma de anillo; en musaceas	<i>Pentalonia nigronervosa</i>
Tercer segmento antenal con 1 – 2 sensorias; cornículos sin hinchazón, ni rebordes notorios; en leguminosas	18
18. Cornículos 1.1 a 1.5 veces la longitud de kla cauda	<i>Picruraphis brasiliensis</i>
Corniculos 1.7 a 2.0 veces la longitud de la cauda.....	<i>Picruraphis vignaphilus</i>
19. Antena más larga que el cuerpo.....	20
Antena más corta o tan larga que el cuerpo.....	26
20. Antena 1.5 a 2.0 veces mas larga que el cuerpo.....	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>
Antena mas larga que el cuerpo pero meneso de 1.5 veces su longitud.....	21

21. Cornículos mas cortos que la cauda.....	<i>Macrosiphoniella sanborni</i>
Corniculos mas largos que la cauda.....	22
22. Abdomen con una mancha grande negra en el dorso.....	<i>Macrosiphum avenae</i>
Abdomen sin manchas en el dorso.....	23
23. Corniculos en su totalidad oscuros a negros	<i>Macrosiphum rosae</i>
Corniculos pálidos o como máximo 2/3 distales de color oscuro.....	24
24. Pico terminado entre el I y II par de coxas; cauda con 2 pares de pelos	<i>Rhodobium porosum</i>
Pico terminado entre el II y III par de coxas, acuda con 3 a 4 pares de pelos	25
25. Corniculos pálidos a verdes en su totalidad; antena pálida	<i>Aulacorthum solani</i>
Corniculos negros en sus 2/3 distales; antena con los extremos distales de los segmentos II y IV y todo el V y el VI de color negros.....	<i>Urelencon erigeronensis</i>
26. Tubérculos antenales laterales convergentes	<i>Myzus persicae</i>
Tubérculos antenales laterales no convergentes.....	27
27. Con manchas oscuras a los lados del abdomen; pico sobrepasando el II par de coxas.....	<i>Myzus ornatus</i>
Sin manchas a los lados del abdomen; pico terminado entre el I y II par de coxas	28
28. Corniculos no curvados; cauda con 2 pares de pelos laterales; longitud del cuerpo 1.2 – 1.3 mm.....	<i>Chaetosiphon fragaegolii</i>

Cornículos no curvados; cauda con 3 – 4 pares de pelos laterales; longitud del cuerpo 2.5 – 3.0 mm.....	Acyrosiphon dirhodum
29. Cuerpo de color verde oscuro, pardo o negro brillante.....	30
Cuerpo de color pálido, amarillo o verde claro.....	37
30. Cauda llevando 5 o mas pares de pelos laterales.....	31
Cauda con menos de 5 pares de pelos laterales.....	33
31. Color verde oscuro a negro; cauda con un ligero cuello en su base	Aphis fabae
Color pardo oscuro a negro brillante; cauda sin cuello en su base.....	32
32. Cornículos $\frac{1}{2}$ de la longitud del cuerpo; cauda con 5 - 13 pares de pelos laterales; antena con la base de los segmentos negra; pelos antenales mas cortos que el diámetro basal del III segmento antenal.....	Toxoptera aurantii
Cornículos $\frac{1}{4}$ a $\frac{1}{5}$ de la longitud del cuerpo; cauda con 9 – 27 pares de pelos laterales; antena toda net negra; pelos antenales hasta el doble del diametro basal del III segmento antenal.....	Toxoptera citricidus
33. Antena más larga o tan larga como la longitud del cuerpo.....	34
Antena más corta que la longitud del cuerpo.....	35
34. Unguis 5 – 6 veces la longitud de la base del VI segmento antenal; cauda negra con 3 pares de pelos laterales; antena tan larga como la longitud del cuerpo; en vid.....	Aphis illinoisensis
Unguis 3 veces la longitud de la base del VI segmento antenal; cauda pálida, con 2 pares de pelos laterales; antena más larga que el cuerpo; en gramíneas.....	Hysteroneura setariae
35. Pico terminado entre el I y II par de coxas; antena corta apenas alcanzando la mitad de la longitud del cuerpo.....	Aphis rumicis

- Pico terminado entre el II y III par de coxas; antena alcanzando entre los $\frac{2}{3}$ y $\frac{3}{4}$ de la longitud del cuerpo.....**36**
- 36.** Tubérculo lateral prominente en el pronoto; cornículos no estrechos hacia la parte distal, con rebordes.....***Aphis craccivora***
- Tubérculo lateral poco visible en el pronoto; cornículos estrechos hacia la parte distal con un reborde bien diferenciado.....***Rophalosiphum padi***
- 37.** Cornículos notoriamente hinchados hacia la mitad distal; margen frontal sinuoso en forma de W.....***Nasonovia lactucae***
- Cornículos no hinchados, o si hinchados, solo ligeramente en su parte media; margen frontal liso o sinuoso pero no como arriba.....**38**
- 38.** Con pelos capitados; primer segmento antenal giboso.....**39**
- Sin pelos capitados; primer segmento antenal no giboso.....**40**
- 39.** Pico terminado entre el II y III par de coxas; con 4 pelos capitados en el dorso de los segmentos abdominales VII y VIII.....***Capitophorus elaeagni***
- Pico terminado en entre el I y II par de coxas; con 2 pelos capitados en el dorso de los segmentos abdominales VII y VIII.....***Capitophorus hippophaes***
- 40.** Abdomen con dos hileras longitudinales dorsales de grandes manchas oscuras.....***Lipaphis erysimi***
- Abdomen sin hileras longitudinales dorsales de manchas.....**41**
- 41.** Cauda con la misma longitud de los cornículos o ligeramente más larga**42**
- Cauda mas corta que los cornículos.....**43**
- 42.** Antena alcanzando un poco más de la longitud del cuerpo; cornículos $\frac{1}{12}$ de la longitud del cuerpo; color amarillo grisáceo; en caña de azúcar.....***Melanophis sacchari***

- Antena corta alcanzando casi 1/3 de la longitud del cuerpo; cornículos 1/11 de la longitud del cuerpo, color verdusco; en crisantemo.....***Brachycaudus rufiabdominalis***
- 43.** Antena con 5 segmentos.....***Rhopalosiphum rufiabdominalis***
- Antena con 6 segmentos.....**44**
- 44.** Abdomen con pequeñas áreas esclerotizadas sobre el dorso.....**45**
- Abdomen sin pequeñas áreas esclerotizadas sobre el dorso.....**46**
- 45.** Cornículos 2 veces más largos que la cauda; fémur, tibia y tarsos oscuros.....***Dysaphis apiifolia***
- Cornículos ligeramente más largos que la cauda; fémur, tibia y tarsos pálidos.....***Dysaphis foeniculus***
- 46.** Antena completamente oscura; unguis 4-5 veces la base del VI segmento antenal; color del cuerpo amarillo intenso..... ***Aphis nerii***
- Antena no completamente oscura; unguis como máximo 3 veces la base del VI segmento antenal; color amarillo pálido a verde.....**47**
- 47.** En el VIII segmento abdominal con un esclerito dorsal oscuro; cornículos ligeramente hinchados en su parte media.....***Rhopalosiphum maidis***
- En el VIII segmento abdominal sin escleritos oscuros; cornículos sin hinchazones.....**48**
- 48.** Cauda oscura con una fuerte constricción en su base; 6 – 9 pares de pelos laterales.....***Aphis spiraecola***
- Cauda pálida no constreñida en su base; con 3 pares de pelos laterales.....***Aphis gossypii***

