

**ESTUDIO ETIOLOGICO DE UN NUEVO DISTURBIO EN CHILACUAN  
(*Vasconcella pubescens* [Badillo]) PRESENTE EN EL DEPARTAMENTO DE  
NARIÑO.**

IVONNE CAROLINA ESTRELLA AYTE  
NIXON ERNESTO REALPE NARVAEZ

UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS  
PROGRAMA DE INGENIERIA AGRONOMICA  
PASTO - COLOMBIA  
2005

**ESTUDIO ETIOLOGICO DE UN NUEVO DISTURBIO EN CHILACUAN  
(*Vasconcella pubescens* [Badillo]) PRESENTE EN EL DEPARTAMENTO DE  
NARIÑO.**

IVONNE CAROLINA ESTRELLA AYTE  
NIXON ERNESTO REALPE NARVAEZ

TESIS DE GRADO PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR  
AL TITULO DE INGENIERO AGRONOMO

PRESIDENTE DE TESIS  
CARLOS BETANCOURTH GARCIA I.A., M.Sc.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS  
PROGRAMA DE INGENIERIA AGRONOMICA  
PASTO-COLOMBIA  
2005

## APROBACIÓN

El trabajo de tesis desarrollado bajo el nombre de “ESTUDIO ETIOLOGICO DE UN NUEVO DISTURBIO EN CHILACUAN (*Vasconcella pubescens*) PRESENTE EN EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO, presentado como requisito parcial para optar el título de Ingeniero Agrónomo, fue **APROBADO** por su director y el Jurado Calificador.

Atentamente,

---

I.A. M.Sc. JAVIER GARCIA ALZATE  
Delegado Comité Asesor

---

I.A. BENJAMIN SAÑUDO  
Jurado de Tesis

---

I.A. Esp. GERMAN CHAVEZ  
Jurado de Tesis

San Juan de Pasto, 13 de mayo del 2005.

Dedicado a:

Dios todo poderoso, a mis padres Myriam Cristina Ayte y Jaime Ignacio Estrella.  
Mis hermanas Julie pauline y Susan Vanesa Estrella.

**Ivonne Carolina Estrella Ayte.**

Dedicado a:

Mis padres Bolívar Antonio y Maria del Carmen  
Mis hermanos William y Eduardo

**Nixon Ernesto Realpe Narváz.**

## **AGRADECIMIENTOS**

Los autores expresan sus agradecimientos a:

Al I.A. M.Sc. Carlos Betancourth García, por su apoyo incondicional para la realización de este proyecto.

Al I.A. M.Sc. Javier García Alzate, I.A. Esp. German Chavez, y I.A. Benjamín Sañudo, por su asesoría en este trabajo.

I.A. M.Sc. Claudia Salazar, por su colaboración en el transcurso de esta investigación.

A nuestros amigos.

A las personas que directa o indirectamente nos colaboraron para poder culminar este trabajo de grado.

## CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCION	18
1. MARCO REFERENCIAL	20
1.1 ENFERMEDADES CAUSADAS POR VIRUS EN CARICACEAS	20
1.1.1 Virus de la Mancha anular de la Papaya	20
1.1.2 Virus del Mosaico de la Papaya	21
1.1.3 Virus del Mosaico del Babaco	22
1.1.4 Virus Rugoso del Babaco	22
1.1.5 Virus del Enrollamiento de las hojas	22
1.1.6 Marchitamiento y Manchado del Tomate	22
1.1.7 Mancha Anular del Tabaco	23
1.1.8 Arrugamiento Amarillo	23
1.2 DEFINICION DE VIRUS	23
1.3 METODOS DE INVESTIGACION EN VIROLOGIA	24
1.3.1 Transmisión mecánica	24
1.3.2 Transmisión por insectos	25
1.3.3 Transmisión por semilla	25

1.4 PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS DE LOS VIRUS	25
1.4.1 Punto final de dilución del virus	25
1.4.2 Longevidad <u>in vitro</u>	26
1.4.3 Punto termal de inactivación	26
2. DISEÑO METODOLOGICO	27
2.1 LOCALIZACION	27
2.2 FUENTE DE INOCULO	27
2.3 MULTIPLICACION DE POTENCIALES PLANTAS INDICADORAS	28
2.4 METODOLOGIA EXPERIMENTAL	29
2.5 TRANSMISION MECANICA	29
2.6 TRANSMISION POR INSECTOS	30
2.7 TRANSMISION POR SEMILLA	31
2.8 DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERISTICAS FISICO-QUIMICAS DEL VIRUS EN CHILACUAN	31
2.8.1 Punto final de dilución del virus en chilacuán	31
2.8.2 Longevidad <u>in vitro</u> del virus en chilacuán	32
2.8.3 Punto termal de inactivación del virus en chilacuán	32

2.9 IDENTIFICACION DEL VECTOR	32
2.10 PRUEBAS DE PATOGENICIDAD	33
2.11 MICROSCOPIA ELECTRONICA	33
3. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	34
3.1 TRANSMISION MECANICA Y RANGO DE HOSPEDANTES	34
3.2 TRANSMISION POR AFIDOS	40
3.3 IDENTIFICACION DEL VECTOR	46
3.4 TRANSMISION POR SEMILLA	46
3.5 PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS DEL VIRUS EN CHILACUAN	47
3.6 PRUEBAS DE PATOGENICIDAD	50
3.7 MICROSCOPIA ELECTRONICA	51
4. CONCLUSIONES	53
5. RECOMENDACIONES	54
BIBLIOGRAFIA	55
ANEXOS	57

## LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Eficiencia de transmisión mecánica del virus en diferentes especies de plantas	39
Tabla 2. Transmisión del virus por el áfido <i>Myzus persicae</i> en grupos de 10 insectos, en diferentes especies de plantas con un período de inoculación de dos minutos, un período de ayuno de 10 minutos y diferentes períodos de adquisición.	41
Tabla 3. Transmisión del virus por el áfido <i>Myzus persicae</i> en grupos de 10 insectos, en diferentes especies de plantas con un período de adquisición de dos minutos, un período de ayuno de 10 minutos y diferentes períodos de inoculación.	42
Tabla 4. Eficiencia de transmisión del virus en chilacuán, por chamico y papaya por el áfido <i>Myzus persicae</i> en grupos de 1, 3, 5 y 10 insectos por planta con periodos de adquisición e inoculación de 2 minutos y un periodo de ayuno de 10 minutos.	42
Tabla 5. Punto final de dilución del virus en chilacuán.	47
Tabla 6. Punto termal de inactivación del virus en chilacuán.	48
Tabla 7. Longevidad <u>in vitro</u> del virus en chilacuán.	48
Tabla 8. Pruebas de Longevidad <u>in vitro</u> a partir del día 17 con un día de diferencia.	49

## LISTA DE FIGURAS

	<b>pág.</b>
Figura 1. Síntomas registrados en plantas de chilacuán, bajo condiciones de campo, Cultivo localizado en el corregimiento de Mapachico - Clorosis generalizada.	27
Figura 2. Distorsión y ampollamiento de hojas.	28
Figura 3. Defoliación total de la planta, observándose únicamente el tallo	28
Figura 4. Síntomas registrados en plantas de chilacuán, bajo condiciones de invernadero, a partir de transmisión mecánica - distorsión de la lámina foliar con ampollamiento y un mosaico rugoso pronunciado.	35
Figura 5. Ampollamiento severo en brotes	35
Figura 6. Defoliación casi total de la planta	36
Figura 7. Síntomas registrados en invernadero en plantas de Papaya a partir de transmisión mecánica - Deformación de lámina foliar	36
Figura 8. Ampollamiento severo con mosaico en papaya	37
Figura 9. Síntomas registrados en invernadero en plantas de Babaco a partir de transmisión mecánica – amarillamiento generalizado con Deformación de la lámina foliar	37
Figura 10. Mosaico rugoso con ampollamientos en Babaco	38
Figura 11. Síntomas registrados en invernadero en plantas de chamico a partir de transmisión mecánica - Amarillamiento general acompañado de mosaicos con ampollamientos.	38
Figura 12. Deformación de lámina foliar en chamico	39
Figura 13. Síntomas registrados en Chilacuán bajo condiciones de Invernadero a través de transmisión por insectos – Mosaicos rugosos con ampollamientos.	45

Figura 14. Reducción tamaño de hojas, proliferación de brotes con alargamiento de pecíolos.	45
Figura 15. Forma áptera del áfido ( <i>Myzus persicae</i> ).	46
Figura 16. Síntomas obtenidos a través de transmisión mecánica de Datura a chilacuán – aparición de ampollamientos	50
Figura 17. Formación de mosaicos intensos en chilacuán.	51
Figura 18. Partícula del virus en chilacuán observada mediante microscopio electrónico.	51

## LISTA DE ANEXOS

	<b>pág.</b>
ANEXO 1. Claves taxonómicas para la identificación de áfidos ápteros de Colombia.	57

## GLOSARIO

**CARBORUNDUM:** sustancia abrasiva en polvo, utilizado en virología para causar laceraciones en plantas para ser inoculadas.

**CEPA:** variación genética de un patógeno.

**ETIOLOGÍA:** estudio de la causa de una enfermedad.

**INOCULO:** mínima estructura de un patógeno (propágulo), capaz de iniciar una enfermedad.

**LACERAR:** causar heridas mediante el uso de un abrasivo.

**LONGEVIDAD IN VITRO:** tiempo en que un virus permanece infectivo fuera del hospedante (Conservado in vitro).

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

**NANOMETRO:** es la millonésima parte de un milímetro

**POTYVIRUS:** género que agrupa virus con partículas largas y flexuosas, transmitidas por áfidos.

**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.

**VECTOR:** organismo capaz de transmitir un agente patógeno donde la diseminación de la enfermedad depende de él.

**VIRUS:** patógeno constituido por ácido nucleico y proteína.

## RESUMEN

En el corregimiento de Mapachico, Municipio de Pasto, Departamento de Nariño, se observó un disturbio de aparente etiología viral atacando cultivos de chilacuán (*Vasconcella pubescens*), con síntomas como deformación de la lámina foliar, amarillamiento generalizado, distorsión de hojas, mosaico rugoso en brotes y retardo del crecimiento.

Además, algunas plantas manifestaron elongación del pecíolo con hojas pequeñas, proliferación de brotes, acortamiento de entrenudos y defoliación total. Todos los síntomas se recuperaron mediante inoculación mecánica sin necesidad de utilizar una solución tampón.

La eficiencia de transmisión mecánica de chilacuán a chilacuán fue del 96% y el periodo de incubación fue de 8 días. En pruebas realizadas desde chilacuán a papaya (*Carica papaya*) la eficiencia fue del 98% y se presentaron síntomas como deformación severa de la lámina foliar, ampollamientos y amarillamiento generalizado, los cuales aparecieron 30 días después de la inoculación. En plantas de Babaco (*Carica pentagona*) la eficiencia fue del 76% presentándose ampollamientos y amarillamiento cuyos síntomas aparecieron 15 días después de la inoculación.

En pruebas con plantas indicadoras se obtuvo reacción con Chamico (*Datura stramonium*) con una eficiencia del 94% y los síntomas que se presentaron fueron ampollamientos y deformación de hojas y aparecieron 5 días después de la inoculación.

En cuanto a las propiedades físicas del virus el punto final de dilución está entre  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$ , el punto termal de inactivación es de 66°C y su longevidad in vitro es de 21 días. La transmisión por semilla fue del 35% y el síntoma más prevalente en esta prueba fue el retardo del crecimiento o enanismo junto con fuertes ampollamientos y en la transmisión por insectos se identificó como agente vector a (*Myzus persicae*), con una eficiencia de transmisión del 90% cuando se utilizan grupos de 10 áfidos, con un periodo de ayuno de 10 minutos y un periodo de adquisición e inoculación de 2 minutos. En observación al microscopio electrónico revelaron la presencia de partículas flexuosas de 500 nanómetros.

## ABSTRACT

In Mapachico, Municipality of Pasto, Department of Nariño, a disturbance of apparent viral etiology was observed attacking chilacuán cultivations (*Vasconcella pubescens*), with symptoms like deformation of the sheet to foliate, widespread yellowing, distortion of leaves, rough mosaic in buds and retard of the growth.

Also, some plants manifested elongation of the petiole with small leaves, proliferation of buds, shortening steem and total defoliation. All the symptoms recovered by means of mechanical inoculation without necessity of using a solution tampon.

The efficiency of mechanical transmission of chilacuan to chilacuan was of 96% and the period of incubation was of 8 days. In tests carried out from chilacuán to papaya (*Carica papaya*) the efficiency was of 98% and symptoms like severe deformation of the sheet were presented of foliate, blistering and widespread yellowing, which appeared 30 days after the inoculation. In plants of Babaco (*Carica pentagona*) the efficiency was of 76% being presented blistering and yellowing whose symptoms appeared 15 days after the inoculation.

In test with indicative plants reaction was obtained with Chamico (*Datura Stramonium*) with an efficiency of 94% and the symptoms that were presented they were blistering and deformation of leaves and they appeared 5 days after the inoculation.

As for the physical properties of the virus the final point of dilution is between  $10^{-4}$  and  $10^{-5}$ , the thermal point of inactivation is of  $66^{\circ}\text{C}$  and its longevity in vitro it is of 21 days. The transmission for seed was of 35% and the symptom more prevalerte in this test was the retard of the growth or dwarfing together with strong blistering and in the transmission of 90% when groups of 10 aphids are used, with a period of fast of 10 minutes and a period of acquisition and inoculation of 2 minutes. In observation to the electronic microscope revealed the presence of particles flexuous of 500 nm.

## INTRODUCCIÓN

El chilacuán (*Vasconcella pubescens*) tiene multiplicidad de posibilidades de aprovechamiento tanto de la fruta en fresco como procesada; también se puede utilizar sus metabolitos secundarios como la pepsina, conocida como papaina, la cual tiene amplias aplicaciones en medicina, cosmetología y en la industria textil, pues aplicada a ciertos tejidos impide el encogimiento, últimamente se ha puesto en marcha la obtención de colorantes carotenoides con aplicaciones en la producción de cosméticos y alimentos concentrados para animales. Además, tiene un gran potencial para convertirse en fuente de exportación y aplicaciones de tipo industrial, así esta planta tiene un futuro promisorio.

“Actualmente, países como Chile y Nueva Zelanda son los principales exportadores de esta fruta. Existen países interesados en su importación como Alemania, Inglaterra, Francia, Italia y Estados Unidos”<sup>1</sup>.

Los países del norte de Suramérica cuentan con una amplia diversidad de especies y formas de *Caricaceas*, donde, además de papaya, (*C. papaya L.*), que es el representante de la familia con mayor importancia económica, se encuentran las papayuelas o papayas de altura, (*V. pubescens*), las cuales han sido objeto de selección y mejora, para enfrentar los diversos problemas, especialmente de adaptación; además, se ha investigado al chilacuán como fuente potencial de resistencia al virus de la papaya y utilizada en hibridaciones con otras especies para generar nuevas variedades como son el babaco (*C.pentagona*) y chamburo (*C. chrysopetala*)<sup>2</sup>.

---

<sup>1</sup> ALVAREZ, Lucio. Recolección, Caracterización y Evaluación de papayas de altura, con énfasis en papayuelas. Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias. 2000. p. 3.

<sup>2</sup> Lbid., p. 4.

Las papayas de altura se cultivan en los departamentos de Antioquía y en menor escala en Nariño en regiones comprendidas entre 1800 y 2800 m.s.n.m.

“Es importante destacar algunos municipios productores de pequeña y mediana escala como son Buesaco, Arboleda, Taminango, San José y Tablón de Gomez”<sup>3</sup>.

En la mayoría de los casos las papayuelas se encuentran en pequeños grupos o como plantas aisladas en los huertos de agricultores, donde la producción se destina para el mercado interno.

Desde el año 2003 se ha observado un nuevo disturbio en el cultivo del chilacuan (*Vasconcella pubescens*) de etiología viral limitando notablemente la cantidad, calidad del fruto y la vida productiva de las plantas, la enfermedad se caracteriza por manifestar síntomas como presencia de amarillamiento generalizado en la hojas, distorsión, ampollamientos y un mosaico rugoso en brotes, con síntomas más severos en hojas jóvenes.

Por tal razón, se realizó el presente trabajo, cumpliendo los siguientes objetivos:

- Determinar su forma de transmisión mecánica, insectos y semilla
- Determinar las propiedades físico – químicas del virus, PFD (Punto final de dilución del virus), LIV (Longevidad in vitro del virus), PTI (Punto termal de inactivación del virus).
- Determinar hospedantes alternos del virus
- Determinar forma y tamaño del virus mediante microscopía electrónica, todo encaminado a desarrollar estrategias de manejo.

---

<sup>3</sup> NARIÑO. SECRETARIA DE AGRICULTURA Y MEDIO AMBIENTE. Consolidado agropecuario, acuícola y pesquero. Pasto, 2002. p. 43.

## 1. MARCO REFERENCIAL

Como el problema estudiado está asociado con un virus en chilacuán (*Vasconcella pubescens*), a continuación se hace una revisión de literatura de algunos problemas registrados en la familia de las *caricaceas* asociados a estos fitopatogenos y algunos aspectos de importancia en virología vegetal.

### 1.1 ENFERMEDADES CAUSADAS POR VIRUS EN *CARICACEAS*

#### 1.1.1 Virus de la Mancha Anular de la Papaya (Papaya ring spot virus).

“Agente causante: Virus flexuoso, con una longitud modal clara; de 760-800 nm y 12 nm de ancho, el cual pertenece al grupo de los Potyvirus”<sup>4</sup>.

“En Colombia esta enfermedad se presenta en forma endémica, su incidencia y severidad causa la muerte de la planta, reduciendo al mínimo su producción y calidad. En variedades obtenidas por el ICA, su vida útil se reduce a 3 o 6 meses de cosecha según el manejo de la planta y la época de aparición del virus”<sup>5</sup>.

Los síntomas se manifiestan principalmente al inicio de la floración y se caracterizan por clorosis de las hojas jóvenes acompañada de clareamiento de nervaduras. A medida que el ataque se hace más severo, las hojas jóvenes presentan un mosaico acompañado por deformación de la lámina foliar con arrugamiento de la misma y en muchos casos la lámina foliar se vuelve filiforme quedando restringida a la nervadura central. A la vez aparecen manchas aceitosas sobre el tallo y los peciolo de color verde oscuro de forma irregular. En los frutos estas manchas tienen forma de anillo concéntrico, lo que le da el nombre a la enfermedad<sup>6</sup>.

---

<sup>4</sup> RIVERA, *et al.* Papaya Ringspot virus and cucumber Mosaic virus associated with a severe Mosaic in Melon. Revista interamericana de Ciencias Agrícolas (San José de Costa Rica) 41(3) 1991. p. 438.

<sup>5</sup> CAMPO, Roberto., VARON, Francia y SALAZAR, Ramon. Situación fitosanitaria en el cultivo de la papaya (*Carica papaya*) en Colombia. Agroindustrial (Colombia) 0(1). 1994. p. 63.

<sup>6</sup> *Ibid.*, p. 64.

“La transmisión de PSRV ocurre principalmente de manera no persistente por los áfidos (*Acyrtosiphon solana*), (*Toxoptera citricidus*), (*Aphis gossypi*), (*A citricota*), (*Mizus persicae*), (*Macrosiphum rosae*), (*Hysteroneura setariae*). También puede ser transmitido mecánicamente de plantas enfermas a sanas. No hay evidencia de su transmisión a través de la semilla”<sup>7</sup>.

“El virus además de la papaya tiene como hospedantes de síntomas sistémicos a (*Cucurbita pepo*), (*Cucumis melo*), (*Citrullus vulgaris*), especies que en condiciones de campo se convierten en la principal fuente de inóculo de la enfermedad”<sup>8</sup>.

**1.1.2 Virus del Mosaico de la Papaya (Papaya mosaic virus).** “Causada por un virus filamentosos; no envuelto; generalmente flexuoso; con una longitud modal clara; de 530 nanómetros, su punto termal de inactivación está entre 73 y 76°C, su punto final de dilución es de 10<sup>-4</sup> y retiene su infectividad hasta por 6 meses a temperatura ambiente”<sup>9</sup>.

“Se detecta fácilmente por los siguientes síntomas: un lento desarrollo de la yema apical, las hojas nuevas o están atrofiadas o manifiestan claro enanismo; las jóvenes, menos afectadas, se notan arrugadas y los pocos frutos que logran desarrollarse no son de calidad comercial”<sup>10</sup>.

“La enfermedad no se transmite por semilla ni por áfidos, pero sí mecánicamente, con herramientas contaminadas”<sup>11</sup>.

---

<sup>7</sup> Ibid., p. 64.

<sup>8</sup> VARON, Francia. Principales enfermedades de la papaya (*Carica papaya*). Memorias XII Congreso de ASCOLFI (Manizales). 1991. p. 15.

<sup>9</sup> ACHICANOY, Hector. Primer seminario taller del cultivo de la Papaya (*Carica papaya*). CORPOICA, Montería (Colombia), Noviembre 3,4 y 5. 1994. p. 7.

<sup>10</sup> GUZMAN, Gerardo. Cultivos no Tradicionales. Ministerio de Agricultura y Ganadería (SUNII), San José de Costa Rica. 1998. p. 38.

<sup>11</sup> VARON, Op cit. p. 13 – 18.

**1.1.3 Virus del Mosaico del Babaco.** “Las plantas infectadas por esta enfermedad presentan deformación de hojas jóvenes y clorosis, tamaño reducido del fruto y baja producción. Esta enfermedad se transmite mecánica y vegetativamente; así como por insectos chupadores plagas en el cultivo del babaco, que aquí en Nariño es transmitido por el áfido (*Myzus persicae*) de manera no persistente”<sup>12</sup>.

“Se determinó que las propiedades físicas son las siguientes: Punto termal de inactivación 62° C, Longevidad in vitro 72 horas, Punto final de dilución 1:10.000”<sup>13</sup>.

**1.1.4 Virus Rugoso del Babaco.** “Las plantas infectadas por esta enfermedad sistémica, presentan los siguientes síntomas: enanismo, hojas que terminan en un penacho, deformes, encrespadas, pequeñas, que presentan un mosaico. Los transmisores de este virus son insectos chupadores que se encuentran en el cultivo del babaco”<sup>14</sup>.

**1.1.5 Virus del Enrollamiento de las hojas en tabaco (Leaf curl tobacco virus).** “Esta enfermedad se ha reportado solamente en la India y en las Filipinas. Las hojas se distorsionan debido al arrugamiento y enrollamiento de los márgenes hacia abajo y adentro. La textura de las mismas se vuelve quebradiza con peciolo torcidos de color verde oscuro. Las nervaduras se aclaran. El virus se transmite por la mosquita blanca (*Bemisia tabaci*) y por injerto, pero no se transmite mecánicamente”<sup>15</sup>.

**1.1.6 Marchitamiento y Manchado del Tomate (Tomato spotted wilt virus).** Esta enfermedad se observó en Hawaii en 1962. Las plantas se defolian prematuramente y muestran clorosis y necrosis de las hojas del ápice. Los peciolo y tallos presentan áreas verdes oscuras de apariencia acuosa o manchas grises sobre los frutos jóvenes. Se transmite mecánicamente y también por cuatro especies de thrips.

---

<sup>12</sup> MARTINES, Alvaro y MARTINES, Javier. Estudio del Agente causal del Mosaico del Babaco (Carica pentagona H) en el Departamento de Nariño. Pasto, Colombia, 1991. 48 p. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Agrícolas.

<sup>13</sup> Ibid. p. 25.

<sup>14</sup> FABARA, George., et al. Manual del Cultivo del Babaco. Universidad Técnica de Ambato. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Quito. Pg. 87-88. 1985.

<sup>15,16, 17,18</sup> ACHICANOY, Op. Cit., p. 7-8.

(*Thrips tabaci*) obtiene el virus en 15 minutos o más, pero no puede transmitirlo a una planta sana hasta 4 ó 18 días más tarde. Esta enfermedad se caracteriza porque al cortar el tallo de plantas enfermas, los nuevos crecimientos son sanos. Hay muchas plantas hospederas (35 especies de las familias *Compositae*, *Cruciferae*, *Leguminoseae*, *Solanaceae* y *Umbelliferae*.)<sup>16</sup>.

**1.1.7 Mancha Anular del Tabaco (Tobacco rings spot).** “Se ha registrado en el Valle del Río Grande, Texas. Los síntomas consistentes en necrosis del ápice y luego un marchitamiento. Este virus se transmite mecánicamente y mediante el nematodo *Xyphinema americanum*; se transmite también por semilla, pero no se ha demostrado en papayo”<sup>17</sup>.

**1.1.8 Arrugamiento Amarillo (Yellow crinicide).** Esta enfermedad se ha observado en Australia desde 1931 y ha causado pérdidas hasta del 30%. Los síntomas consisten en áreas translúcidas en las hojas, entre las nervaduras cerca de los márgenes: otras hojas permanecen normales. Las áreas translúcidas se desprenden, lo que hace que las hojas adquieran formas irregulares, los pecíolos de hojas viejas amarillentas presentan epinastía antes de caer definitivamente. Se producen estructuras similares al follaje en vez de pétalos u otras partes florales. No hay producción de frutos después del ataque. Este patógeno ha sido transmitido de tomate a papaya mediante el uso de (*Cuscuta australis*), pero no por injerto de papayo a papayo. Lo transmite también la chicharrita (*Orosius argentatus*), pero no se transmite mecánicamente<sup>18</sup>.

## 1.2 DEFINICION DE VIRUS

“Un virus está constituido por una o más moléculas de ácido nucleico, normalmente protegido por una o varias cubiertas de proteína o lipoproteína, que es capaz de organizar su propia multiplicación, cuando se encuentra en el interior de un hospedante susceptible vivo. En el interior de esas células la producción de nuevas partículas de virus depende de la maquinaria de síntesis de proteína del hospedante”<sup>4</sup>.

---

<sup>4</sup> MATTHEWS, R. Plant Virology. New York: Academic Press, 1991. p. 345.

“Los virus son partículas submicroscópicas capaces de generar enfermedades en su hospedante, presentan formas isométricas ó flexuosas y su material genético puede ser ADN o ARN de cadena sencilla o doble”<sup>5</sup>.

Los virus son parásitos moleculares obligados, acelulares, cuya estructura es semejante a la de las macromoléculas normales de las células. Se consideran como pequeños paquetes de información genética extraña al hospedante, pero interpretable por éste, que modifican los procesos celulares normales para asegurar su replicación y maduración como agentes transmisibles, lo cual quiere decir que dependen en absoluto de los mecanismos de síntesis de proteínas y de la energía generada por las células vivas del hospedante. Su genoma está constituido por una sola clase de ácido nucleico (ADN o ARN) el cual contiene las instrucciones para la replicación y modo de acción en sus hospedantes. Durante la fase de transmisión extracelular se encuentra encapsidado en una envoltura proteínica o lipoproteica. No poseen fisión binaria, algunos requieren de otro virus (“helper”) para completar su replicación<sup>6</sup>.

### 1.3 METODOS DE INVESTIGACION EN VIROLOGIA

**1.3.1 Transmisión mecánica.** 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, 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<sup>7</sup>.

---

<sup>5</sup> LOEBENSTEIN, Gad. What is a virus. In: 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. 3.

<sup>6</sup> PINEDA, Benjamin. XXV Congreso Ascolfi: ¡Manejo de enfermedades en sistemas de producción agrícola... un desafío!. CIAT, Palmira (Colombia). Agosto 11, 12 y 13 de 2004. P. 10.

<sup>7</sup> LAWSON, Roger. Transmission of plant viruses. In: 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.

“Una vez obtenido el extracto 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”.

**1.3.2 Transmisión por insectos.** “En lotes donde se presenta el problema se recolectan diferentes especies de insectos chupadores asociados con el cultivo en estudio, los insectos se colectan de plantas sintomáticas, se capturan con un aspirador de plástico y se los transporta a un sitio seguro”<sup>8</sup>.

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 semipersistentes, 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. En seguida los insectos se eliminan con un insecticida para posteriormente hacer las evaluaciones correspondientes<sup>9</sup>.

**1.3.3 Transmisión por semilla.** Se cosechan frutos de plantas sintomáticas, de los cuales se extraen las semillas con los cuidados del caso y se siembran manualmente en bolsas plásticas, con suelo esterilizado, para mantenerse las plantas en invernadero durante seis meses. Se realizan evaluaciones semanales para mirar si hay aparición de síntomas<sup>10</sup>, 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 nutricional.

## **1.4 PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS DE LOS VIRUS**

**1.4.1 Punto final de dilución del virus.** “Es la máxima dilución soportada por un virus, para continuar siendo infectivo. Es el alcance de un virus

---

<sup>8</sup> MATTHEWS, Op. cit., p. 432.

<sup>9</sup> Ibid., P. 433.

<sup>10</sup> Ibid., p. 434.

a una mínima concentración a la cual todavía actúa sobre el hospedante. El agua es un diluyente recomendado. 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. El punto final de dilución se da entre la más alta dilución en la que se detuvo la infección y la inmediatamente anterior”<sup>11</sup>.

**1.4.2 Longevidad in vitro del virus.** “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 son hechas por lo general con savia recién extraída y almacenada en envases taponados”<sup>12</sup>.

**1.4.3 Punto termal de inactivación.** “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”<sup>13</sup>.

“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<sup>º</sup> C”<sup>14</sup>.

---

<sup>11</sup> DIJKSTRA, Jeanne y DE JAGER, Cess. Practical plant virology. New York:Pro Edit, 1998. p. 305.

<sup>12</sup> Ibid., p. 305.

<sup>13</sup> Ibid., p. 306.

<sup>14</sup> Ibid., p. 307.

## 2. DISEÑO METODOLOGICO

### 2.1 LOCALIZACION

El trabajo se desarrolló en condiciones de invernadero de la Universidad de Nariño, Torobajo, (Pasto, Nariño) a 2.600 m.s.n.m, y una temperatura promedio de 13° C, en los laboratorios de Entomología de la Universidad de Nariño y se contó con la colaboración del Centro Internacional de Agricultura Tropical, Palmira (V), en la Unidad de Virología Vegetal.

### 2.2 FUENTE DE INOCULO

En el municipio de Pasto, Corregimiento de Mapachico, se seleccionaron plantas de chilacuan, las cuales presentaban síntomas como clorosis generalizada en las hojas (figura 1), distorsión y ampollamiento de hojas (figura 2) un mosaico rugoso en brotes, con síntomas más severos en hojas jóvenes, además, plantas con síntomas avanzados, donde se observó una defoliación casi total (Figura 3).

A partir de las plantas seleccionadas en el campo, se tomaron tejidos jóvenes y se transportaron al invernadero de la Universidad de Nariño, recubriendo las hojas con papel toalla humedecida y se colocaron dentro de bolsas de papel aluminio para evitar su deterioro y realizar posteriormente pruebas de transmisión.

*Figura 1. Síntomas registrados en plantas de chilacuan, bajo condiciones de campo, cultivo localizado en el Corregimiento de Mapachico – clorosis generalizada.*



*Figura 2. Distorsión y ampollamiento de hojas.*



*Figura 3. Defoliación total de la planta, observándose únicamente el tallo.*



### **2.3 MULTIPLICACION DE POTENCIALES PLANTAS INDICADORAS**

Se utilizaron las siguientes especies de plantas registradas como potenciales indicadoras de virus:

Quinoa ( *Chenopodium quinoa L.* ), Tabaco ( *Nicotiana tabacum L.* ), Chamico ( *Datura stramonium Domin* ), Melón ( *Cucumis melo L.* ), Sandía ( *Citrullus lanatus thunb* ), Papaya ( *Carica papaya L.* ), Babaco ( *Carica pentagona H.* ).

El Chilacuán ( *Vasconcella pubescens* ) y las plantas indicadoras se multiplicaron por semilla excepto el babaco que se propagó vegetativamente por esquejes provenientes de plantas sanas que contenían 3 yemas, se las dejó por un día en un lugar sombreado para eliminar el exceso de savia lechosa que inhibe el enraizamiento y posteriormente se las transplantó en un sustrato con buen contenido de Materia orgánica contenido en bolsas de 2 kilos.

Para el resto de plantas que se propagan por semilla se hizo un semillero y se le aplicó un cc de Previcur (Propamocarb) por cada litro de agua, para protegerse del mal del talluelo de las plántulas conocido como Damping off, las cuales cuando tuvieron dos ó tres hojas verdaderas se transplantaron a bolsas de 1 kg que contenían una proporción 3:1 de suelo y materia orgánica.

Estas plantas se mantuvieron en invernadero antes y después de la inoculación. Además, se fertilizaron después del transplante con 3 gramos de NPK (15-15-15) y se les suministró riego diariamente.

## **2.4 METODOLOGIA EXPERIMENTAL**

Por tratarse de un experimento donde lo que se buscaba era esclarecer la etiología de una enfermedad, los resultados se presentan como porcentajes de infección en cada una de las diferentes pruebas, debido a que el comparador siempre obtuvo porcentaje de 0% de infección.

## **2.5 TRANSMISION MECANICA**

Para estas pruebas se maceraron tejidos jóvenes sintomáticos de hojas de chilacuán en morteros esterilizados y previamente refrigerados, se utilizaron 50 plantas de chilacuán de dos meses de edad.

Posteriormente, se inocularon un par de hojas jóvenes bien desarrolladas de cada una de las plantas indicadoras de dos meses de edad, las cuales fueron asperjadas previamente con carborundum 600 mallas para causar laceraciones. Se utilizaron 50 plantas de cada especie indicadora e igual número como testigos.

Los testigos se inocularon únicamente con agua destilada; una vez pasada la inoculación las plantas se lavaron y se marcaron con cinta, las plantas testigos se ubicaron distanciadas de las plantas tratadas para evitar contacto entre ellas, y así evitar posibles contagios.

## **2.6 TRANSMISION POR INSECTOS**

En los lotes donde se presenta el problema, se recolectaron áfidos presentes en plantas con los síntomas característicos de la enfermedad y se transportaron hacia el invernadero de la Universidad de Nariño (Torobajo) para ser mantenidos en plantas sanas de chilacuán con el fin de obtener colonias libres de virus, los insectos fueron cuidadosamente retirados de las plantas con un pincel fino y colocados en cajas de Petri con trozos de hoja de chilacuán sanas sobre papel filtro humedecido. En cuanto hubo crías áfidos libres de virus ya que en la mayoría de los casos para estos insectos no se registra transmisión trasovárica.

Los insectos fueron mantenidos en plantas sanas de chilacuán que se mantuvieron en jaulas de madera y malla para evitar cualquier tipo de contaminación.

Para las pruebas de transmisión por insectos se tomaron grupos de 1, 3, 5 y 10 individuos, los cuales se dejaron en cajas petri con papel toalla humedecida con el fin de que cumplan períodos de ayuno de 10 minutos previo a la adquisición del virus. Los insectos fueron trasladados con un pincel de punta fina hacia las plantas enfermas y una vez insertaban su estilete en el tejido se probaron tiempos de adquisición del virus entre 40, 80 y 120 segundos.<sup>15</sup>

Este procedimiento se realiza para relación insecto vector – virus no persistente, lo cual se presumía por su alto porcentaje de transmisión mecánica, que es una característica muy frecuente para este tipo de virus.

Posteriormente, con el pincel se transportaron a las plantas sanas de chilacuan durante un tiempo de inoculación de 40, 80 y 120 segundos. Se utilizaron 50 plantas de chilacuan por tratamiento; así se determinó el mejor tiempo de adquisición e inoculación.

---

<sup>15</sup> Matthews, Op. Cit., p. 438.

De igual forma, se hicieron los tratamientos en las plantas indicadoras, utilizando 50 plantas de cada una; los testigos fueron plantas sanas expuestas a insectos que no habían tenido contacto con plantas enfermas, una vez pasada la inoculación, los insectos fueron eliminados con Sistemín (Dimetoato) en dosis de un centímetro cúbico por litro de agua; las plantas se evaluaron semanalmente hasta que aparecieron los síntomas.

## 2.7 TRANSMISION POR SEMILLA

Según Matthews<sup>16</sup> Se cosecharon 15 frutos procedentes de plantas sintomáticas de las cuales se obtuvieron 500 semillas y se hizo un germinador en arena esterilizada, se transplantaron 100 plantas a bolsas de 1 Kg. de suelo esterilizado y se mantuvieron en el invernadero durante seis meses, libres de la presencia de insectos. Se realizaron evaluaciones semanales durante este período de tiempo para observar si se presentaban síntomas, las plantas se fertilizaron mensualmente con 0.5 gramos de 15-15-15 para evitar síntomas de deficiencias nutricionales.

La incidencia en pruebas de transmisión y propiedades físico químicas se determinó mediante la fórmula de Van Der Plank:

$$i (\%) = \frac{\text{N}^\circ \text{ de plantas enfermas}}{\text{N}^\circ \text{ Total de plantas}} \times 100$$

## 2.8 DETERMINACION DE LAS CARACTERISTICAS FISICO-QUÍMICAS DEL VIRUS EN CHILACUAN.

Una vez conseguida 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 descrita por Dijkstra y De Jager<sup>17</sup>, la cual se describe a continuación:

**2.8.1 Punto final de dilución.** Se tomaron 10 ml de savia infectada ( $10^9$ ) y se inocularon mecánicamente las plantas testigo de chilacuán, de la savia pura se tomó un ml. y se diluyó en 9 ml. de agua y se formó la dilución  $10^{-1}$  y se hizo una

---

<sup>16</sup> MATTHEWS, Op. Cit., p. 443.

<sup>17</sup> DISJKSTRA, Jeanne y DE JAGER, Cess, Op. Cit., p. 308.

nueva inoculación mecánica, de esta dilución se tomó un ml. y se llevó a 9 ml. de agua para obtener la dilución  $10^{-2}$  y se hizo nuevamente una inoculación mecánica, con la última dilución se trabajó sucesivamente hasta conseguir la dilución  $10^{-6}$ , se inocularon 50 plantas por cada dilución y se dejó el mismo número de plantas como testigo.

**2.8.2 Longevidad in vitro.** Se obtuvo savia de tejidos foliares de plantas de Chilacuán con síntomas, se llevo a tubos de ensayo limpios con un volumen de 2ml por tratamiento los cuales se taparon con papel aluminio y se guardaron a temperatura ambiente durante diferentes tiempos de conservación del inóculo 1, 2, 4, 8, 16, 32 días y un testigo con savia inmediatamente extraída. Una vez transcurrido cada uno de los tiempos, se inocularon mecánicamente 50 plantas de chilacuán. Una vez determinado el tiempo en que no se registran síntomas, se trabajó con escalas de un día de almacenamiento de sabia contaminada para determinar el tiempo exacto de actividad del virus fuera de una célula viva.

**2.8.3 Punto termal de inactivación.** Se colocaron 2 ml. de savia infectada, en cuatro tubos de ensayo, se calentaron a baño María en estufa con temperatura regulada hasta alcanzar temperaturas de 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 °C durante cinco minutos. Pasado el tiempo de tratamiento se llevaron los tubos de ensayo a un baño de hielo, además se dejó un testigo a temperatura ambiente; posteriormente se hizo las inoculaciones de 50 plantas de chilacuan para cada temperatura.

Una vez hallado el punto termal de inactivación en una de las siete escalas anteriormente anotadas se probó en un rango de diez grados centígrados por encima y por debajo de esa temperatura encontrada, se utilizó escalas de 1 °C para encontrar la temperatura exacta donde el virus es inactivado. Estos tratamientos se hicieron siguiendo la metodología descrita por Dijkstra y De Jager<sup>18</sup>.

## 2.9 IDENTIFICACION DEL VECTOR

Una vez obtenida la transmisión por áfidos se realizó su identificación en el laboratorio de Entomología de la Universidad de Nariño, con la ayuda de un

---

<sup>18</sup> DISJKSTRA, Jeanne y DE JAGER, Cess, Op. Cit., p. 308.

microscopio de luz, siguiendo las claves taxonómicas para identificación de áfidos descritas por Bustillo y Sánchez<sup>19</sup> (Anexo 1).

## **2.10 PRUEBA DE PATOGENICIDAD**

Luego de la transmisión del virus a las plantas potenciales indicadoras y para completar las pruebas de patogenicidad, se tomaron plantas de chamico (*Datura estramonium*) con síntomas y se repitió el proceso de transmisión mecánica nuevamente hacia plantas sanas de chilacuan. Se inocularon 50 plantas de chilacuan para comprobar que se trataba del mismo patógeno, lo mismo se hizo con papaya (*Carica papaya*) y Babaco (*Carica pentagona*), el criterio para saber si se trataba del mismo virus es la aparición de los mismos síntomas descritos en la transmisión mecánica.

## **2.11 MICROSCOPIA ELECTRONICA**

Muestras de tejidos foliares procedentes de plantas sintomáticas de chilacuan se enviaron al Centro Internacional de Agricultura Tropical, Palmira, Valle, para comprobar la presencia de partículas virales, mediante observación al microscopio electrónico de transmisión, con la técnica de tinción negativa, y así verificar su forma y tamaño, como un criterio taxonómico importante para su posterior clasificación.

---

<sup>19</sup> BUSTILLO, Alex y SANCHEZ, Guillermo. Los áfidos en Colombia, plagas que afectan los cultivos agrícolas de importancia económica. Bogotá: ICA-Colciencias, 1986. 96 p.

### 3. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

#### 3.1 TRANSMISION MECANICA Y RANGO DE HOSPEDANTES

En las pruebas realizadas con chilacuán las plantas presentaron los primeros síntomas entre 8 y 15 días manifestando distorsión de la lámina foliar en toda la planta con ampollamientos y un mosaico rugoso pronunciado (figura 4), posteriormente se presentó un ampollamiento severo en brotes (figura 5), y al cabo de dos meses se presentó un amarillamiento generalizado en toda la planta y cinco meses después ocurre una defoliación casi total de la planta, tal como ocurre en campo (Figura 6).

A pesar de que no se tuvo como una variable de evaluación se observó que los síntomas se enmascaran por altas temperaturas y después de 15 días de la aplicación del fertilizante. Sin embargo, los síntomas reaparecen consistentemente una vez las condiciones vuelven a ser adecuadas para la reproducción y activación del virus.

El anterior comportamiento es usual para patologías causadas por estos agentes, donde los virus inducen alteraciones metabólicas que afectan el delicado equilibrio celular y la planta expresa cambios morfológicos e histológicos y se considera que dichas alteraciones moleculares son el resultado de la interacción entre el efecto depresivo ocasionado por la multiplicación del virus y la reacción de defensa activa de las plantas, condicionadas por la acción de factores como nutrición, temperatura y la iluminación<sup>20</sup>.

Las enfermedades virales son persistentes e incurables, la planta jamás se libera del virus, por otro lado no existe una cura para erradicar el virus de una planta enferma. Por estas razones los síntomas se vuelven a manifestar a los pocos días de haber fertilizado.

---

<sup>20</sup> MATTHEWS, R, Op Cit., p. 435 y DISJKSTRA, Jeanne y DE JAGER, Cess, Op. Cit., p. 308 y WALKEY, D. Applied plant virology. London: Chapman and Hall, 1991. p. 310.

*Figura 4. Síntomas registrados en plantas de chilacuán, bajo condiciones de invernadero, a partir de transmisión mecánica - distorsión de la lámina foliar con ampollamiento y un mosaico rugoso pronunciado.*



*Figura 5. Ampollamiento severo en brotes*



*Figura 6. Defoliación casi total de la planta.*



El virus en estudio en la transmisión mecánica de chilacuán a papaya presentó síntomas como deformación severa de la lámina foliar (Figura 7), y un ampollamiento severo con mosaicos en todas las hojas (Figura 8), los cuales aparecieron 30 días después de la inoculación.

*Figura 7. Síntomas registrados en invernadero en plantas de Papaya a partir de transmisión mecánica - Deformación de lámina foliar*



Figura 8. Ampollamiento severo con mosaicos en papaya.



En plantas de Babaco (*Carica pentagona*) la eficiencia fue del 76%, presentando amarillamiento generalizado con deformación de lámina foliar (figura 9) y un Mosaico rugoso con ampollamientos (figura 10), cuyos síntomas aparecieron 15 días después de la inoculación.

Figura 9. Síntomas registrados en invernadero en plantas de Babaco a partir de transmisión mecánica – amarillamiento generalizado con Deformación de la lámina foliar



Figura 10. Mosaico rugoso con ampollamientos en Babaco.



En plantas de chamico (*Datura stramonium*) la eficiencia fue del 94%, donde se presentó un amarillamiento general, acompañado de mosaicos con ampollamientos (figura 11), y una deformación de lámina foliar (figura 12), síntomas que aparecieron 5 días después de la inoculación.

Figura 11. Síntomas registrados en invernadero en plantas de chamico a partir de transmisión mecánica - Amarillamiento general acompañado de mosaicos con ampollamientos.



Figura 12. Deformación de lámina foliar en chamico.



El virus en estudio es de fácil transmisión mecánica con una eficiencia del 96% en pruebas de chilacuán a chilacuán, de igual manera de chilacuán a papaya (*Carica papaya*) la eficiencia fue del 98%, y de chilacuán a babaco la eficiencia fue del 76% (Tabla 1). Los porcentajes de infección indican que tanto el chilacuán, la papaya y el babaco son cultivos altamente susceptibles al virus, por este motivo se debe tener en cuenta prácticas de manejo para evitar la diseminación de la enfermedad, como la erradicación de plantas enfermas y sobre todo hacer un manejo de semilleros libres de virus.

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

ESPECIE	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS AFECTADAS	EFICIENCIA DE TRANSMISION %
Chilacuán	50	48	96
Chamico	50	47	94
Papaya	50	49	98
Babaco	50	38	76
Tabaco	50	0	0
Quinua	50	0	0
Melón	50	0	0
Sandía	50	0	0

Este alto porcentaje de transmisión en *caricaceas* se debe posiblemente a su estrecha relación taxonómica con la especie en estudio.

Además se debe tener en cuenta que se encontró a *Datura* como planta indicadora del virus y al ser un hospedante alternativo puede servir en la multiplicación y conservación del virus.

En las demás especies probadas como el melón, sandía, tabaco y quinua, no hubo reacción, por lo tanto no se presentaron síntomas.

En el corregimiento de Mapachico se debe pensar en erradicar las plantas infectadas por el virus ya que pueden servir como fuente de inóculo de la enfermedad tanto para esta zona como para otras, como también se debe adecuar prácticas de manejo en plantaciones nuevas, especialmente para evitar la entrada del virus.

Una forma adicional de manejo sería realizando una cosecha selectiva, dejando de últimos los árboles que presenten síntomas y así evitar en algún grado la diseminación de una planta a otra por manipulación del operario.

### **3.2 TRANSMISION POR AFIDOS**

Se obtuvo resultados positivos de transmisión con el áfido (*Myzus persicae*) Sultz, por el método de transmisión no persistente, comprobándose que el insecto porta el virus en el estilete.

En la transmisión de afidos de chilacuán a chilacuán expuestos a un periodo de ayuno de 10 minutos, y probando diferentes tiempos de adquisición e inoculación se comprobó que a los 120 segundos de adquisición (Tabla 2), y con el mismo periodo de inoculación que fueron determinados como los mejores tiempos para lograr un mayor porcentaje de eficiencia (Tabla 3), se obtuvo el mayor porcentaje de eficiencia, determinando que se trata de un virus no persistente o sea que no son retenidos después de la ecdisis cuando los áfidos eliminan la cutícula que recubre el canal de alimentación del aparato bucal chupador, por lo tanto es de muy fácil transmisión por vector donde los virus pueden ser adquiridos de plantas enfermas en cuestión de segundos, por tal razón, el virus en estudio es de muy fácil diseminación en cultivos de chilacuán, papaya y babaco. Otra característica de este tipo de transmisión no persistente o no circulativa, es la ausencia de un

periodo de tiempo (latencia) necesario para que el vector pueda transmitir el virus una vez adquirido.

Los áfidos constituyen el grupo más numeroso de insectos vectores con más de 190 especies transmisoras de por lo menos 164 virus diferentes, esta notable capacidad de transmisión de los áfidos está estrechamente relacionada a su amplia distribución, biología, hábitos migratorios y alimenticios.

Vale la pena destacar la importancia de *Myzus persicae* como la especie que transmite el mayor número de virus, esta característica responde principalmente al hábito polígrafo de esta especie.

En las pruebas de transmisión con el áfido *Myzus persicae* se pudo al igual que en transmisión mecánica, reproducir los síntomas característicos de la enfermedad, demostrándose así que el virus corresponde al grupo de los que son llevados en el estilete por su vector.

Tabla 2. Transmisión del virus por el áfido *Myzus persicae* en grupos de 10 insectos, en diferentes especies de plantas con un período de inoculación de 2 minutos, un período de ayuno de 10 minutos y diferentes períodos de adquisición.

ESPECIE	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS AFECTADAS			EFICIENCIA DE TRANSMISIÓN		
		PERIODO ADQUISICION EN SEGUNDOS			PERIODO DE ADQUISICION EN SEGUNDOS		
		40	80	120	40	80	120
Chilacuán	50	10	31	45	20	62	90
Papaya	50	15	36	48	30	72	96
Chamico	50	4	9	21	8	19	42
Quinoa	50	0	0	0	0	0	0
Tabaco	50	0	0	0	0	0	0
Melón	50	0	0	0	0	0	0
Sandía	50	0	0	0	0	0	0

Tabla 3. Transmisión del virus por el áfido *Myzus persicae* en grupos de 10, en diferentes especies de plantas con un período de adquisición de 2 minutos, un período de ayuno de 10 minutos y diferentes períodos de inoculación.

ESPECIE	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS AFECTADAS			EFICIENCIA DE TRANSMISIÓN		
		PERIODO ADQUISICION EN SEGUNDOS			PERIODO DE ADQUISICION EN SEGUNDOS		
		40	80	120	40	80	120
Chilacuán	50	12	33	44	24	66	88
Papaya	50	21	39	47	42	78	94
Chamico	50	3	8	20	6	16	39
Quinua	50	0	0	0	0	0	0
Tabaco	50	0	0	0	0	0	0
Melón	50	0	0	0	0	0	0
Sandía	50	0	0	0	0	0	0

Teniendo en cuenta que 120 segundos de adquisición e inoculación fueron los mejores tiempos para hacer la transmisión, se trabajó con uno, tres, cinco y diez áfidos y como resultado se obtuvo que con un áfido, la eficiencia fue del 8%, cuando se utilizaron 3 áfidos la eficiencia fue del 30%, al utilizar 5 áfidos fue del 48% y con 10 áfidos la eficiencia de transmisión fue del 90%, lo que indica que a medida que se aumentaba el número de insectos por planta en el ensayo de transmisión se aumento la eficiencia de transmisión a plantas sanas, estos resultados dieron una idea de que no todos los insectos expuestos fueron capaces de transmitir o adquirir el virus, situación que puede estar influenciada por las diferencias en la eficiencia de transmisión por diferentes estados de desarrollo del insecto. (Tabla 4).

Tabla 4. Eficiencia de transmisión del virus en chilacuán, chamico y papaya, por el áfido *Myzus persicae* en grupos de 1, 3, 5 y 10 por planta con períodos de adquisición e inoculación de 2 minutos y un período de ayuno de 10 minutos.

<b>Chilacuán (<i>Carica pubescens</i>)</b>			
GRUPOS DE AFIDOS	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS AFECTADAS	EFICIENCIA DE TRANSMISIÓN
1	50	4	8
3	50	15	30
5	50	24	48
10	50	45	90

<b>Chamico (<i>Datura stramonium</i>)</b>			
<b>GRUPOS DE AFIDOS</b>	<b>PLANTAS INOCULADAS</b>	<b>PLANTAS AFECTADAS</b>	<b>EFICIENCIA DE TRANSMISIÓN</b>
1	50	1	2
3	50	4	8
5	50	9	18
10	50	21	42
<b>Papaya (<i>Carica papaya</i>)</b>			
<b>GRUPOS DE AFIDOS</b>	<b>PLANTAS INOCULADAS</b>	<b>PLANTAS AFECTADAS</b>	<b>EFICIENCIA DE TRANSMISIÓN</b>
1	50	5	10
3	50	15	30
5	50	25	50
10	50	48	96

Debido a que un gran porcentaje de plantas se infectaron con el virus mediante el vector con una eficiencia del 90% utilizando 10 insectos, nos indica la tendencia de la dispersión del virus en el campo teniendo en cuenta la incidencia y el número de áfidos representando un grave problema para las potenciales zonas productoras de chilacuán, ya que este insecto se halla asociado con las plantas enfermas en las localidades donde se encuentra este disturbio y además se encontró que *Datura* es una planta hospedera potencial del virus, esto explica la distribución generalizada, la rápida diseminación de la enfermedad y la dificultad en controlar su dispersión en las zonas donde se encuentra presente.

Se realizaron los mismos tratamientos en papaya y *Datura* y se observó comportamientos similares con porcentajes de transmisión del 96 y 42% respectivamente (Tabla 4).

En las demás especies como quinua, sandía, melón y tabaco los resultados no fueron positivos, posiblemente por la especificidad del virus y su relación con el vector, tal situación está suficientemente respaldada en diferentes estudios para otros virus<sup>21</sup>.

Así, es de anotar que consistentemente los síntomas son similares a los encontrados en forma natural y la asociación de un vector hace de este disturbio

<sup>21</sup> HARRIS, K; MARAMOROSCH, K. Vectors of plant pathogens. New York: Academic Press, 1980. p 320.

un problema sanitario complejo y el cual debe manejarse con varias estrategias integradas, en especial dirigidas al control del insecto.

Debido a que la transmisión por vector es positiva, es muy importante el manejo de estos vectores en viveros, por lo que se puede llevar plantas enfermas a sitio definitivo, convirtiéndose así en fuente de inóculo para otras plantaciones y puede generar grandes pérdidas por la baja producción.

La transmisión por áfidos del virus en estudio, permite diferenciar y descartar la posible relación existente entre otros virus, tales como el virus de la mancha anular de la papaya y virus del mosaico de la papaya, donde la transmisión biológica se realiza por áfidos vectores como son: *Myzus persicae* (Sultz), *Aphis gossypii* (Glover), *macrosiphum Solanifolii* (Asmead)<sup>22</sup>.

Cabe destacar que el virus de la mancha anular de la papaya (PSRV) y el virus del mosaico del babaco existe transmisión por áfidos en forma no persistente donde se encuentra como vector a *Myzus persicae*, con el cual la eficiencia de transmisión de los virus a llegado a ser de 100% y 90% respectivamente.

En el virus del Mosaico de la papaya se transmite mecánicamente pero no por áfidos.<sup>23</sup>

Haciendo una comparación con el virus del Mosaico del Babaco, se obtuvo la misma eficiencia del 90% con igual número de áfidos y con los mismos tiempos de adquisición e inoculación, pero los síntomas que presentaron las plantas son muy diferentes a los manifestados en esta investigación, como son la presencia de pequeñas lesiones húmedas, angulares y verde oscuras en el envés de las hojas, que evolucionaron hacia manchas necrosadas y aceitosas.<sup>24</sup>

El período de incubación estuvo entre 15 y 20 días y los síntomas que manifestaron fueron mosaicos rugosos con ampollamientos (figura 13), un reducción de tamaño de hojas, proliferación de brotes con alargamiento de pecíolos (figura 14).

---

<sup>22</sup> SANCHEZ DE LUQUE, Concepción. Noticias fitopatológicas. Vol 5. No. 2. 1976. p. 28.

<sup>23</sup> ACHICANOY, Op. cit., p. 8.

<sup>24</sup> MARTINES, Op. cit. p. 43.

*Figura 13. Síntomas registrados en Chilacuán bajo condiciones de invernadero a través de transmisión por insectos – Mosaicos rugosos con ampollamientos.*



*Figura 14. Reducción de tamaño de hojas, proliferación de brotes con alargamiento de pecíolos en chilacuán.*



### 3.3 IDENTIFICACION DEL VECTOR

Se logró identificar individuos ápteros que son de color verde amarillento, cornículos presentes largos sobresaliendo sobre el cuerpo de forma cilíndrica, sin proceso supracaudal, tubérculos antenales laterales desarrollados, antena mas corta o tan larga como el cuerpo, tubérculos antenales laterales convergentes y cauda con 3 pares de pelos laterales que son características de los áfidos *Myzus persicae* (Figura 15).

Figura 15. Forma áptera del áfido (*Myzus persicae*),



### 3.4 TRANSMISION POR SEMILLA

Durante los cuatro meses de evaluación bajo condiciones de invernadero se pudo establecer que el virus se transmite por semilla sexual con un eficiencia del 35% de plantas sintomáticas, presentando una elongación de pecíolos y un fuerte ampollamiento especialmente en los brotes, y el síntoma más prevalente en esta prueba fue el retardo del crecimiento o enanismo. Al saber que este virus se propaga por semilla, se convierte en un gran problema, debido a que este cultivo se propaga totalmente por semilla, y el manejo debe ir enfocado a hacer semilleros libres de virus y con controles dirigidos al vector.

De otro lado, el tener plantas afectadas desde estados iniciales de desarrollo provoca mayores pérdidas en producción y genera una dinámica epidemiológica de la enfermedad más eficiente.

### 3.5 PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS DEL VIRUS EN CHILACUAN

Las propiedades fisicoquímicas del virus se determinaron en plantas de chilacuán de la siguiente manera:

Se trabajo con 6 diluciones, que se realizaron a partir de Savia infectada ( $10^0$ ) y se procedió a inocular mecánicamente plantas testigo de chilacuán, 50 plantas para cada dilución.

La eficiencia de transmisión con savia infectada sin diluir ( $10^0$ ) fue de 82% y la menor eficiencia de 6%, se obtuvo con la dilución  $10^{-4}$ .

Se encontró que la máxima dilución soportada por el virus para continuar siendo infectivo esta entre  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  punto final de dilución del virus estudiado (Tabla 5).

Tabla 5. Punto final de dilución del virus en chilacuán.

Dilución	Plantas inoculadas	Plantas afectadas	Eficiencia %
$10^0$	50	41	82
$10^{-1}$	50	29	58
$10^{-2}$	50	21	42
$10^{-3}$	50	14	28
$10^{-4}$	50	3	6
$10^{-5}$	50	0	0
$10^{-6}$	50	0	0

Se inocularon 50 plantas de chilacuán con savia infectada la cual se calentó a baño María por 5 minutos con temperatura regulada por un termómetro hasta alcanzar temperaturas de  $20^{\circ}\text{C}$  -  $60^{\circ}\text{C}$ . Dejando un testigo a temperatura ambiente presentando una eficiencia de 96% con 48 plantas afectadas y a una temperatura de  $60^{\circ}\text{C}$  una eficiencia del 16% con 8 plantas afectadas (Tabla 6).

Una vez encontrada la temperatura requerida para la completa inactivación del virus ( $60^{\circ}\text{C}$ ), se probó en un rango de  $10^{\circ}\text{C}$  utilizando escalas de  $1^{\circ}\text{C}$  para encontrar la temperatura exacta donde el virus es inactivado. En el punto termal de inactivación fue de  $66^{\circ}\text{C}$  con una eficiencia del 2% con una planta afectada (Tabla 6).

Tabla 6. Punto termal de inactivación del virus en chilacuán

Temperatura	Plantas inoculadas	Plantas afectadas	Eficiencia %
15	50	48	96
20	50	48	96
30	50	46	92
40	50	33	66
50	50	22	44
60	50	8	16
61	50	7	14
62	50	5	10
63	50	3	6
64	50	2	4
65	50	1	2
66	50	1	2
67	50	0	0
68	50	0	0
69	50	0	0
70	50	0	0
80	50	0	0

Para probar la longevidad in Vitro se colocó 2ml de savia infectada de plantas de chilacuán sintomáticas en tubos de ensayo, los cuales se sellaron y guardaron a temperatura ambiente durante diferentes tiempos de conservación del inóculo 1,2,4 8, 16, 32 días y un testigo con savia inmediatamente extraído (día 0), se inocularon 50 plantas de chilacuán. Con el testigo se obtuvo una eficiencia del 96% y 48 plantas afectadas y a los 16 días se encontró una eficiencia del 18% y 9 plantas afectadas tiempo en el cual no se encontraron síntomas y se trabajó con escalas de 1 día (Tabla 7).

Tabla 7. Longevidad *in Vitro* del virus en chilacuán.

Días	Plantas inoculadas	Plantas afectadas	Eficiencia %
0	50	48	96
1	50	44	88
2	50	36	72
4	50	26	52
8	50	12	24
16	50	9	18
32	50	0	0

El virus retuvo su infectividad por 21 días con una eficiencia del 2% y una planta afectada (Tabla 8). Las plantas que resultaron positivas presentaron los mismos síntomas descritos en los otros tipos de transmisión y en condiciones de campo.

Tabla 8. Pruebas a partir del día 17 con un día de diferencia

Días	Plantas inoculadas	Plantas afectadas	Eficiencia %
17	50	7	14
18	50	5	10
19	50	4	8
20	50	2	4
21	50	1	2
22	0	0	0
23	0	0	0
24	0	0	0
25	0	0	0
26	0	0	0
27	0	0	0
28	0	0	0
29	0	0	0
30	0	0	0
31	0	0	0
32	0	0	0

De los virus que se tiene información hasta el momento a partir de las propiedades físico químicas del virus en estudio se ha podido establecer diferencias significativas entre este y los virus de mayor importancia reportados en caricaceas.

El virus del Mosaico del Babaco tiene un punto final de dilución que esta entre  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$ , su punto termal de inactivación es de 62 °C, pero su longevidad in vitro es de 72 horas.

El Virus del mosaico de la papaya tiene el punto final de dilución de  $10^{-4}$ , su punto termal de inactivación esta entre 73 y 76 °C y su longevidad in vitro es de 6 meses.

El Virus de la Mancha anular de la papaya tiene el punto final de dilución en  $10^{-3}$ , su longevidad in vitro es de 72 horas y su punto termal de inactivación está entre 54 y 56 °C.

El virus en estudio presentó una longevidad en Vitro de 21 días, un punto final de dilución entre  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  y un punto termal de inactivación de 66 °C.

Lo cual establece que después de 21 días de conservación del inóculo, con temperaturas superiores a 26 °C y a una concentración menor a  $10^{-5}$  existen muy pocas probabilidades de que haya infección en plantas de chilacuán.

Las propiedades físico químicas hoy son un indicativo de la estabilidad del virus extracelularmente.

### 3.6 PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

Al realizar transmisión mecánica con tejidos sintomáticos de Chamico sobre chilacuán, indica que 46 de las 50 plantas inoculadas (92%) con extracto de Datura, manifestaron los mismos síntomas encontrados en las pruebas de esta investigación, especialmente un ampollamiento severo en las hojas nuevas (figura 16), conjuntamente con unos mosaicos muy pronunciados (figura 17). Es decir los síntomas obtenidos en Datura son provocados por el mismo virus.

*Figura 16. Síntomas obtenidos a través de transmisión mecánica de Datura a chilacuán – aparición de ampollamientos*



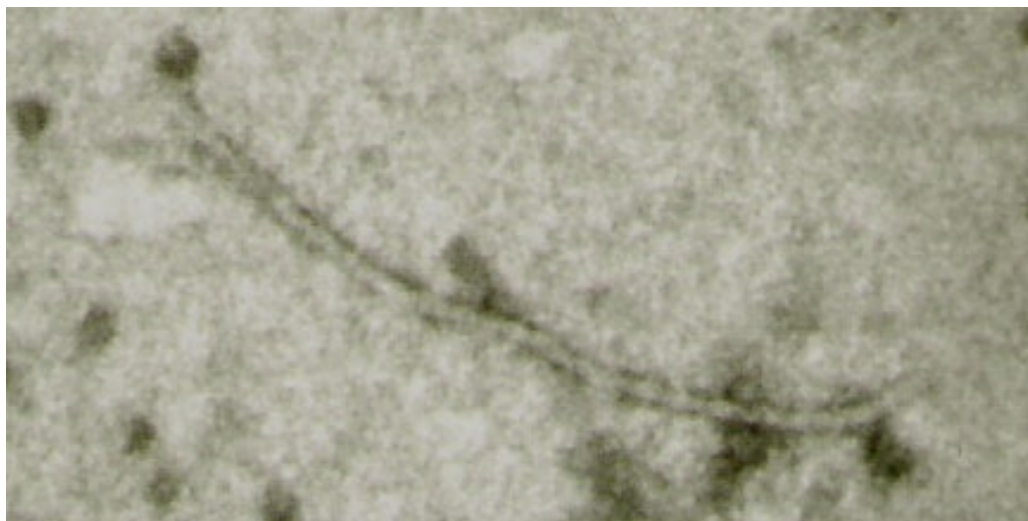
*Figura 17. Formación de mosaicos intensos en chilacuán.*



### **3.7 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 flexuosas de 500 nanómetros, demostrando la presencia física de estos agentes a pesar de su tamaño reducido y naturaleza submicroscópica. Las muestras se tomaron de tejidos foliares tiernos sintomáticos de chilacuán (Figura 18).

*Figura 18. Partícula del virus en chilacuán observada mediante microscopio electrónico.*



*Fig. 18. Partícula del virus en chilacuán observada mediante microscopio electrónico. 120.000 X*

La morfología y el tamaño de las partículas, junto con características tales como clase de ácido nucleico, tipo y sentido de lectura del filamento, han permitido agrupar los virus para facilitar su estudio y caracterización dentro de la diversidad biológica de la naturaleza, con miras a su entendimiento y manejo en relación a su efecto detrimental sobre la salud de las plantas.

Al comparar este tipo de partícula con dos virus que de *Caricaceas* que se han observado al microscopio electrónico, los cuales son el virus de la Mancha anular de la papaya presentando partículas flexuosas de 800 nm de longitud que pertenece al género de los Potyvirus y el virus del Mosaico de la Papaya que presenta partículas filamentosas flexibles de 533 nm que pertenece al género de los Potexvirus, se puede decir que el virus en estudio tiene similitud en este aspecto con el virus del mosaico de la papaya, pero ya se han anotado las diferencias tanto en síntomas, propiedades físico químicas y la transmisión con vector.

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

#### 4. CONCLUSIONES

El disturbio en chilacuán presente en el Corregimiento de mapachico, Municipio de Pasto, es causado por un nuevo virus en caricaeas, l, se transmite mecánicamente, por áfidos *Myzus persicae* y por semilla sexual.

El virus tiene un período de incubación entre 8 y 15 días, los síntomas están consistentemente asociados a un virus flexuoso de 500 nm de longitud.

El virus presenta un punto termal de inactivación de 66 ° C, un punto final de dilución entre  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  y retiene su infectividad por 21 días.

Entre los cultivos que son infectados con el virus en estudio está la papaya (*Carica papaya*), el babaco (*Carica pentágona*) y encontramos a chamico (*Datura stramonium*) como hospedante alterno

## **5. RECOMENDACIONES**

Realizar estudios tendientes a determinar el efecto de la enfermedad sobre la producción.

Determinar la incidencia de la enfermedad en las zonas productoras en el Departamento de Nariño.

Establecer estrategias de manejo encaminadas al establecimiento de semilleros libres de virus, evitar la dispersión en forma mecánica durante labores de cosecha y transmisión por áfidos.

Hacer un estudio con el fin de buscar cepas suaves para el posible manejo de esta enfermedad viral.

Evaluar la reacción de diferentes materiales de chilacuán al virus en estudio, tratando de buscar fuentes de resistencia.

## BIBLIOGRAFIA

ACHICANOY, Hector. Primer seminario taller del cultivo de la Papaya (Carica papaya). CORPOICA: Monteria (Colombia), Noviembre 3,4 y 5. 1994. 23 p.

ALVAREZ, Lucio. Recolección, Caracterización y Evaluación de papayas de altura, con énfasis en papayuelas. Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias. 2000. 45 p.

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

CAMPO, Roberto., VARON, Francia y SALAZAR, Ramon. Situación fitosanitaria en el cultivo de la papaya (Carica papaya) en Colombia. Agroindustrial (Colombia) 0(1). 1994. 64 p.

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

FABARA, George., *et al.* Manual del Cultivo del Babaco. Universidad Técnica de Ambato. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Quito. 1985. 93 p.

GUZMAN, Gerardo. Cultivos no Tradicionales. Ministerio de Agricultura y Ganadería (SUNII), San José de Costa Rica. 1998. 323 p.

HARRIS, K; MARAMOROSCH, K. Vectors of plant pathogens. New York: Academic Press, 1980. 465 p.

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

LOEBENSTEIN, Gad. What is a virus. In: Loebenstein, Gad; LAWSON, Roger y BRUNT, Alan. Virus and virus – like diseases of bulb and flower crops. New York: John Wiley and sons, 1995. 34 p.

MARTINES, Alvaro y MARTINES, Javier. Estudio del Agente causal del Mosaico del Babaco (Carica pentagona H) en el Departamento de Nariño. Pasto, Colombia, 1991. 48 p. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Agrícolas.

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

NARIÑO. SECRETARIA DE AGRICULTURA Y MEDIO AMBIENTE. Consolidado agropecuario, acuícola y pesquero. Pasto, 2002. 47 p.

PINEDA, Benjamin. XXV Congreso Ascolfi: ¡Manejo de enfermedades en sistemas de producción agrícola... un desafío!. CIAT, Palmira (Colombia). Agosto 11, 12 y 13 de 2004. 33 p.

RIVERA, et al. Papaya Ringspot virus and cucumber Mosaic virus associated with a severe Mosaic in Melon. Revista interamericana de Ciencias Agrícolas (San José de Costa Rica) 41(3) 1991. 438 p.

SANCHEZ DE LUQUE, Concepción. Noticias fitopatológicas. Vol 5. No. 2. 1976. 35 p.

VARON, Francia. Principales enfermedades de la papaya (Carica papaya). Memorias XII Congreso de ASCOLFI (Manizales) 13 – 18. 1991.

WALKEY, D. Applied plant virology. London : Chapman and Hall, 1991. 336 p.

## ANEXO 1. Claves taxonómicas para la identificación de áfidos ápteros de Colombia.

Con esta clave se puede llegar a la identificación de cualquiera de las 49 especies de áfidos registrados 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 del cuerpo.....                          | 2         |
|    | <b>Cornículos presentes largos sobresaliendo sobre el cuerpo de forma cilíndrica cónica o clavada.....</b>  | <b>10</b> |
| 2. | Cornículos ausentes.....  | 3         |
|    | Cornículos mamiliformes.....  | 4         |
| 3. | Antena con 5 segmentos, 1/5 de la longitud del cuerpo ..... <i>Pemphigus sp</i>   |           |
|    | Antena con 6 segmentos, 1/3 de la longitud del cuerpo..... <i>Asiphoniella dactylonii</i>   |           |
| 4. | Cuerpo en forma de cóccido; de color negro con una franja blanca cerosa rodeando la margen del cuerpo; apéndices muy reducidos.....               | 5         |
|    | Cuerpo no en forma de cóccido; no negro, sin margen blanca cerosa; apéndices no muy reducidos.....  | 6         |
| 5. | Antena con 4 segmentos; con 1 – 3 pares de pelos cortos, agudos o espatulados sobre el vértex..... <i>cerataphis variabilis</i>                   |           |
|    | Antena con 5 segmentos, sin los pelos cortos, agudos o espatulados sobre el vértex..... <i>Cerataphis orchidearum</i>                             |           |
| 6. | Pulgones con secreciones cerosas en la extremidad abdominal semejante a lana o algodón que alcanza 3-4 mm de largo..... <i>Eriosoma lanigerum</i> | 7         |
|    | Pulgones sin esas secreciones cerosas en la extremidad del abdomen.....   | 8         |

7.	De color gris oscuro; cuerpo triangular entre los dos cornículos; pico sobrepasando el III par de coxas, pulgones grandes, longitud del cuerpo 2,8-5,5 mm.....	
	Pulgones amarillos a marrones; cuerpo no triangular; pico terminando no más 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..... <i>Tuberolachnus salignus</i>	
	Abdomen sin tubérculo dorsal; longitud del cuerpo 2,8 – 3,2 mm; en coníferas..... <i>Cinara fresai</i>	
9.	Color amarillo, cuerpo plano, con setas largas; en el follaje .....	<i>Sipha flava</i>
	Color marrón, cuerpo globoso, sin setas largas; en la raíz.....	<i>Tetraneura nigriabdominales</i>
10.	Con un proceso supracaudal en forma de dedo... <i>cavariella aegopodii</i>	
	<b>Sin proceso supracaudal.....</b>	<b>11</b>
11.	Cornículos con un hinchamiento muy notorio en su mitad.....	<i>Rhopalosiphoninus latysiphon</i>
	<b>Cornículos sin hinchamientos notorios en su mitad, si con algún hinchamiento.....</b>	<b>12</b>
12.	Color del áfido velado por un fino polvo cetáceo blanco grisáceo; en crucíferas.....	<i>Brevicorne brassicae</i>
	<b>Color del áfido no velado por polvos ceráceos.....</b>	<b>13</b>
13.	<b>Margen frontal cóncavo, con tubérculos antenales laterales desarrollados.....</b>	<b>14</b>
	Margen frontal no cóncavo, liso o sinuoso.....	29
14.	Cuerpo de color morado, marrón oscuro o negro brillante.....	15
	<b>Cuerpo de color diferente a morado, marrón o negro.....</b>	<b>19</b>

15.	Longitud del cuerpo mayor de 2,5mm.....	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 sensorías; cornículos con una ligera hinchazón hacia el extremo distal, reborde muy notorio en forma de anillo; en musáceas..... <i>Pentalonia nigronervosa</i>	
	Tercer segmento antenal con 1-2 sensorías; cornículos sin hinchazón, ni rebordes notorios, en leguminosas.....	18
18.	Cornículos 1,1 a 1,5 veces la longitud de la cauda ..... <i>Picturaphis brasiliensis</i>	
	Cornículos 1,7 a 2,0 veces la longitud de la cauda..... <i>Picturaphis vignaphilus</i>	
19.	Antena más larga que el cuerpo.....	20
	<b>Antena más corta o tan larga como el cuerpo.....</b>	<b>26</b>
20.	Antena 1,5 a 2,0 veces más larga que el cuerpo..... <i>Macrosiphum euphorbiae</i>	
	Antena más larga que el cuerpo pero menos de 1,5 veces su longitud.....	21
21.	Cornículos más cortos que la cauda ..... <i>Macrosiphoniella sanbornii</i>	
	Cornículos más largos que la cauda.....	22
22.	Abdomen con una mancha grande negra en el dorso..... <i>Macrosiphum avenae</i>	
	Abdomen sin manchas sobre el dorso.....	23
23.	Cornículos en su totalidad oscuros a negros..... <i>Macrosiphum rosae</i>	

