

## METODO PARA PROBAR TRANSMISION TRANSOVARICA DE PATOGENOS POR *Trialeurodes vaporariorum* Y RESULTADOS CON EL CAUSANTE DEL "AMARILLAMIENTO DE VENAS DE LA PAPA"

Martha Cecilia Diaz<sup>1</sup>

Mauricio Pulgarín<sup>1</sup>

Alfredo Saldarriaga V.<sup>2</sup>

### RESUMEN

El patógeno causante del "amarillamiento de las venas de la papa" transmitido por la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae), constituye un problema de importancia económica en los cultivos de los Departamentos de Nariño y Antioquia, en Colombia y en toda la zona papera del Ecuador. Conocimientos sobre las interrelaciones de estos dos organismos, entre ellos el de una posible transmisión transovárica, contribuyen al perfeccionamiento de programas encaminados al correcto manejo de la enfermedad. En trabajos bajo condiciones de laboratorio e invernadero, en el Centro Regional de Investigaciones "La Selva", del ICA, en el municipio de Rionegro (Ant.), se probó una metodología para estudiar la posibilidad de transmisión del patógeno a través del huevo y el tipo de propagación que él cumple en el vector. Los resultados indicaron que el método desarrollado, basado en el manejo de ninfas del insecto cuando están recién nacidas y aún móviles, fue muy satisfactorio, lográndose una sobrevivencia del insecto y su emergencia como adulto del 67,7%. El método permitió establecer que el patógeno no es transmitido transováricamente. Este resultado y el

de otros estudios llevan a concluir que el tipo de interrelación con el vector es el de semipersistente.

### SUMMARY

Yellow vein disease of potatoes is a serious disease in Colombia (Antioquia, and Nariño) and Ecuador. It is important to acquire full knowledge of the pathogen and its vector, the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae), in order to achieve a correct management of the disease. Research conducted at the ICA Experimental Station "La Selva" in Rionegro (Ant.), testing a method to evaluate vector - pathogen relationships allowed to conclude that: There is not trans-ovary transmission of the pathogen, and there is a semipersistent vector - pathogen relationship. The method tested utilized very young nymphs still able to move. 67.7% of them arrived to the adult stage.

### INTRODUCCION

La persistencia y el efecto sobre los rendimientos de papa del patógeno causante del "amarillamiento de las venas de la papa", transmitido por la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae), constituye un problema de importancia económica en los cultivos de los Departamentos de Antioquia y Nariño en Colombia, y en los de toda la zona papera del Ecuador.

Para contrarrestar y manejar adecuadamente este problema se requieren varios conocimientos básicos, tales

como los tipos de interrelación de los organismos, siendo uno de ellos el relativo a la transmisión transovárica del inóculo, para lo cual es necesario conocer la biología, el desarrollo y el comportamiento del insecto vector.

Las consideraciones anteriores y la no existencia de una metodología apropiada para establecer si ocurre o no transmisión transovárica del "amarillamiento de las venas de la papa", condujeron a la realización de este estudio.

### REVISION DE LITERATURA

La mosca blanca de los invernaderos, presente en varias zonas de Colombia, es uno de los problemas más graves de la agricultura, especialmente en aquella desarrollada en forma intensiva y particularmente bajo condiciones de invernadero. Es plaga muy polífaga, Mound y Salsy (1978) registran 278 plantas como huéspedes. Es el insecto vector del "virus del falso amarillamiento de la remolacha" (beet pseudo-yellow virus, BPYV) (Duffus 1973), el cual también es transmitido a lechuga y pepino en Holanda y Francia (Dorst et al. 1983). En Japón transmite el virus del "amarillamiento del pepino" (cucumber yellows virus) (Yamashita et al., citados por Dorst et al. 1983). En Francia transmite un amarillamiento severo en melón cultivado en invernadero (Lot et al., citados por Dorst et al. 1983). En Colombia y Ecuador es vector reconocido del "amarillamiento de las venas de la papa" (Buritica 1971; Navarro 1984; Saldarriaga et al. 1987; Diaz et al. 1989).

Algunas características del insecto, de importancia para un desarrollo adecua-

1. Estudiantes, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Apartado Aéreo 11981, Medellín.

2. Entomólogo, Profesor Asociado, Universidad Nacional de Colombia, Apartado Aéreo 568, Medellín.

do de la metodología estudiada en el presente trabajo, son: Huevos de forma ahusada, muy pequeños y provistos de un pedicelo; recién ovipositados son de color amarillento y próximos a eclosionar de color negro brillante; se les encuentran en el envés de las hojas. El estado ninfal pasa por cuatro instares, de los cuales el primero, y sólo durante unas pocas horas después de su emergencia, posee patas que le permite desplazarse un poco dentro del área de la misma hoja donde nació. Luego del período móvil fija se aparato bucal, el estilete, e inicia su alimentación, se le atrofian las patas y las antenas y pasa a un estado sedentario a partir de esta parte del instar y en los tres restantes. El adulto se desarrolla durante el cuarto instar dentro de una envoltura ó cápsula pupal, de la cual emerge por una fisura en forma de T (Mound y Halsey 1978). Russel (1975), citando varios autores, dice que la duración del ciclo de vida varía entre 18 a 59 días, dependiendo principalmente de la temperatura y la humedad relativa. La duración del ciclo bajo las condiciones del CRI "La Selva", fue: huevo de 9 a 11 días; los cuatro instares ninfales se cumplieron entre 18 y 20 días. Bajo condiciones de confinamiento en jaulas a prueba de insectos algunos adultos sobrevivieron hasta 48 días (Saldarriaga 1987).

En un estudio sobre las relaciones patógeno - insecto, Saldarriaga (1987) encontró un período mínimo de adquisición de 7 horas y un período de inoculación de 30 minutos. También probó que el vector pierde el inoculo cuando se cumple la ecdicis en el paso de pupa a adulto. Estos resultados permitieron al autor concluir que el posible tipo de transmisión de la enfermedad era el de no persistente. Díaz et al. (1989) determinaron la transmisión de la enfermedad con una mosca blanca, y lograron el mayor porcentaje de transmisión con un grupo de 20 adultos. El período de adquisición mínimo fue de 1 hora, aumentándose el porcentaje de transmisión a medida que se incrementó el tiempo de adquisición. El período de inoculación mínimo, tomado con el tiempo de exposición al

alimento, fue de 1 hora. No hallaron un período de incubación, al menos con los tiempos óptimos, 24 horas, de adquisición e inoculación. La máxima retención de la enfermedad en el vector fue de 6 días. Con los datos anteriores los autores dedujeron que el tipo de transmisión de la enfermedad se acerca más al de semipersistente.

La transmisión transovárica sólo ocurre en aquellas enfermedades que se multiplican dentro del insecto vector y el patógeno puede ser transmitido a través del huevo durante varias generaciones del insecto sin que éste tenga que recurrir a una nueva adquisición del patógeno (Harris 1979). La comprobación de multiplicación del patógeno se ha hecho de manera indirecta y se considera cierta cuando se cumplen hechos tales como: a) Período de adquisición de días a semanas, b) La retención después de ecdicis, c) La persistencia hasta la muerte del vector y d) La presencia de partículas del patógeno en el tejido del vector (Harris 1979).

Es escasa la evidencia de la multiplicación de patógenos cuando sus vectores son moscas blancas (Costa 1976). Hasta el presente ninguna de las enfermedades transmitidas por estos insectos es pasada transováricamente (Bird 1986). Con *Bemisia tabaci* (Gennadius) la transmisión transovárica ha sido negativa en "cassava mosaic virus" (Cohen, citado por Costa 1976), "tomato yellow leaf curl virus" (Cohen y Nitzany 1966), "mung bean mosaic virus" (Rathi y Nene 1976). Sin embargo Fernando, citado por Costa (1976), encontró que la enfermedad "aclaramiento de las venas del ají", reportada en Ceilán, estuvo presente en todas las colonias del *Bemisia* y nunca lograron ser liberadas del agente causal, sugiriendo que se multiplica en el insecto y es pasado a sus huevos. No se encontraron referencias de trabajos relacionados con transmisión transovárica de enfermedades propagadas por *T. vaporariorum*.

## MATERIALES Y METODOS

El estudio se llevó a cabo en el Centro Regional de Investigaciones "La Selva", del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), localizado en el municipio de Rionegro (Ant.), a 2.100 m.s.n.m., con una temperatura promedio de 17°C, una precipitación de 2.100 mm anuales, una humedad relativa promedio de 78% y perteneciente a la formación ecológica bosque húmedo Montano Bajo (bh - MB). Los trabajos se desarrollaron bajo condiciones de invernadero.

La metodología consistió en:

De plantas de fríjol, que ha sido registrado como no huésped del "amarillamiento de las venas de la papa" (Saldarriaga, 1987), se colectaron con aspirador bucal adultos de la mosca blanca de los invernaderos. en esta colección se dió preferencia a aquellos adultos encontrados formando parejas, en las cuales las hembras son de mayor tamaño que los machos. El cultivo de fríjol infestado estaba aislado y retirado de cultivos de papa.

La población de moscas colectadas se pasó a plantas de papa con síntomas de la enfermedad (Figura 1), cultivadas en materos dentro de jaulas a prueba de insectos. A los insectos se les permitió permanecer alimentándose en las plantas por un período de 5 días.

La población anterior fue trasladada con la ayuda de un aspirador bucal a otras jaulas, también a prueba de insectos y donde se tenían plantas de fríjol (Figura 2), con el fin de obtener los huevos del insecto.

Con base en el período de desarrollo embrionario requerido por el insecto, 9 a 11 días bajo las condiciones en CRI "La Selva", se procedió a observar el envés de las hojas de fríjol infestadas para detectar la presencia y abundancia de huevos próximos a eclosionar. Se tomaron algunas de las hojas anteriores, y se colocaron individualmente en cajas de petri que tenían en su fondo una hoja de papel filtro húmedo; las cajas

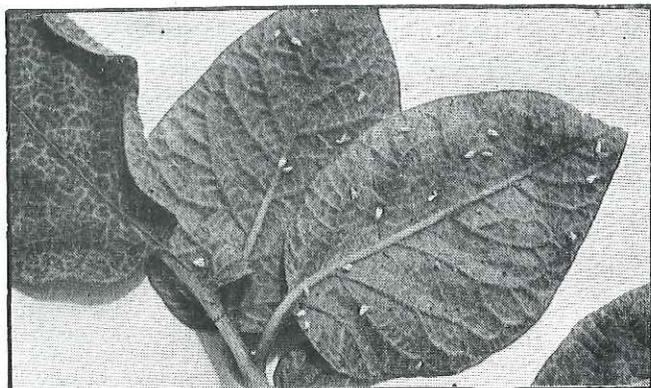


Figura 1. Adultos de *Trialeurodes vaporariorum* alimentándose en hoja de Papa con "amarillamiento de las venas".

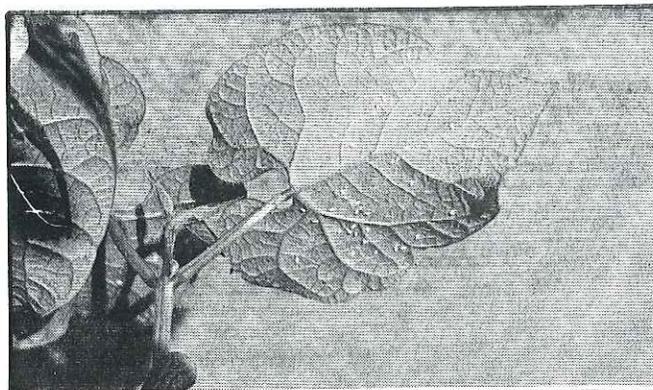


Figura 2. *T. vaporariorum* alimentándose y ovipositando en hojas de fríjol.

se taparon y guardaron en un lugar fresco. Las hojas y los huevos se observaron a mañana, tarde y noche, bajo un microscopio estereoscópico. Tan pronto se hallaron las primeras ninfas y cuando se presentó el mayor grado de emergencia se procedió a cumplir con el siguiente paso.

Cada caja de petri con su hoja de fríjol se observó bajo estereoscopio y con la ayuda de una aguja muy fina, alfiler 00, se tomó cuidadosamente cada una de las ninfas recién emergidas, aquellas que estaban caminando y que aún no habían fijado su aparato bucal en la hoja y se pasaron al envés de hojas de plántulas de papa libres del patógeno causante de la enfermedad. Estas plántulas procedían de semilla sexual, método con el cual no se transmite el "amarillamiento de las venas de la papa" (Buriticá 1971; Navarro et al. 1984; Saldarriaga

1987), de la variedad Atzimba, muy susceptible a la enfermedad y por lo tanto buena indicadora, fueron cultivadas en materos y dentro de jaulas a prueba de insectos. A cada plántula se le colocaron 20 ninfas, después de lo cual se cubrieron con una pequeña jaula (Figura 3), también a prueba de insectos, y dos días después las plantas se pasaron a jaulas más grandes (Figura 4).

La infestación anterior se hizo hasta conformar 5 repeticiones, cada una con 5 plántulas por parcela. El tratamiento control, una repetición con 5 plántulas, se hizo infestando las plántulas con ninfas provenientes de huevos ovipositados por adulto de mosca blanca que nunca se alimentaron en plantas enfermas. Se hizo otro experimento con el mismo número de repeticiones, empleando para las infestaciones ninfas ya sésiles, o sea aquellas que ya habían fijado su estilete, siguiendo los cuidados y procedimientos

usados en el traspaso de ninfas recién emergidas.

Para determinar la bondad del método y la posibilidad de transmisión transovárica se hicieron los siguientes conteos y observaciones: a.- Número de ninfas vivas 16 días después de su colocación sobre el envés de las hojas, b.- Número de adultos emergidos y c.- Durante 50 días se observaron las plántulas infestadas con el fin de detectar síntomas de la enfermedad.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se presenta el número de ninfas, tanto de la prueba con aquellas recién emergidas como de las sésiles, sobrevivientes 16 días después de su traslado de las hojas de fríjol a las de papa. La Tabla también presenta el número de

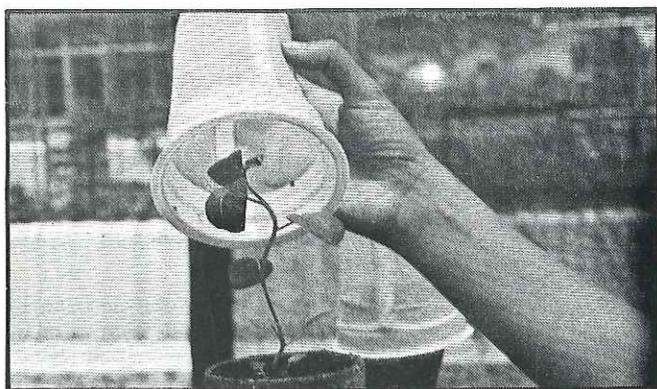


Figura 3. "Vaso jaula" para manejo e infestación de plántulas con *T. vaporariorum*.

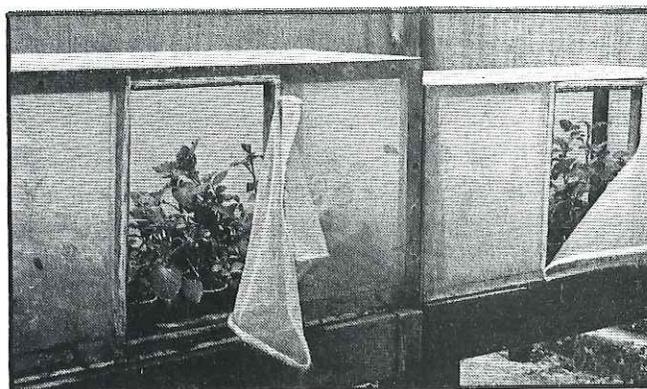


Figura 4. Jaulas a prueba de insectos para confinamiento de plántulas infectadas con "amarillamiento de las venas".

adultos que lograron desarrollarse de las ninfas trasladadas.

El número de ninfas que sobrevivieron en la prueba de las recién emergidas alcanzaron un porcentaje promedio del 67,6%. La sobrevivencia se estableció al observar el crecimiento de las ninfas, un mayor tamaño después de la muda y se reconfirmó su desarrollo normal cuando de ellas emergieron los adultos, 66% en promedio. Estos datos indican que el insecto no sufrió mayores alteraciones durante su manejo y que pudo cumplir satisfactoriamente todos sus procesos fisiológicos, incluido el de sus relaciones con el patógeno de la enfermedad. Esta sobrevivencia puede considerarse como muy apropiada para la transmisión del patógeno en el caso de que las ninfas lo hubiesen adquirido desde el huevo y lo pudieran haber inoculado bien en forma inmediata o posterior, después de que iniciaron la alimentación en la plantas indicadoras de la variedad Atzimba, según lo establecieron Díaz et al. (1989), cuando lograron la transmisión con sólo una mosca blanca de *T. vaporarium* en un período de inoculación de 1 hora. También es posible estipular que el uso de ninfas recién nacidas evita que si el patógeno es portado por el insecto se pierda en las cuatro mudas que ocurren durante el desarrollo ninfal en caso de tipos de transmisión de patógenos no persistentes o semi-persistentes.

El tratamiento con el traspaso de ninfas sésiles dió una mortalidad del 100%. Esto indica, a no ser que se desarrolle una metodología más apropiada, que no debe ocurrir una inoculación de un patógeno al utilizar ninfas de mosca blanca que ya hayan pasado el corto período de ninfa móvil, pues son incapaces de restablecerse y colocar su estilete dentro del tejido de la hoja.

Comparativamente, el método desarrollado en este trabajo, traspaso de ninfas recién nacidas y aún móviles, con el dato por Rathi y Nene (1974) consistente en liberar adultos virulíferos en plantas inmunes y esperar hasta obtener una generación en estas plantas y pasarla

TABLA 1. Sobrevivencia de ninfas 16 días después del traslado del primer instar de fríjol a plántulas de papa y número de adultos desarrollados.

Repetición No.	Número de ninfas tratadas	Ninfas móviles		Ninfas sésiles	
		Vivas 16 días después	No. adultos emergidos	Vivas 16 días después	No. adultos emergidos
1	100	64	64	0	0
2	100	65	65	0	0
3	100	65	71	0	0
4	100	75	70	0	0
5	100	61	60	0	0

luego a plantas indicadoras, parece ser más seguro por cuanto no se corren tantos riesgos con el manejo del vector infectado. El traspaso de ninfas recién nacidas móviles es un método más rápido si se tiene en cuenta que no hay necesidad de esperar una nueva generación del insecto, que bajo ciertas condiciones pueden tomar períodos largos para cumplir su ciclo de vida.

Para aplicar la metodología aquí expuesta es necesario realizar estudios referentes a algunos aspectos de la biología, desarrollo y comportamiento de la mosca blanca vectora, bajo las condiciones climáticas del lugar donde se efectuarán las pruebas, pues conocimientos tales como el período requerido para cumplir el desarrollo embrionario, que es muy dependiente de la temperatura y otros factores, son necesarios para la programación de infestaciones en los trabajos.

Los datos y observaciones relacionados con el número de plantas que mostraron los síntomas de "amarillamiento de las venas de la papa" hasta 51 días después de las infestaciones con ninfas de primer instar aún móviles, fueron totalmente negativos; ninguna de las plántulas, incluyendo las del testigo absoluto y las que fueron infestadas con ninfas sésiles, mostraron los síntomas del amarillamiento de venas.

Los resultados anteriores permiten deducir que el patógeno causante del "amarillamiento de las venas de la papa", que tiene como vector biológico

al *T. vaporarium*, no se transmite transováricamente y que el insecto lo retiene en forma semipersistente.

## CONCLUSIONES

- La enfermedad "amarillamiento de las venas de la papa" no es pasada transováricamente por su vector la mosca blanca de los invernaderos, *T. vaporarium*.
- La forma más adecuada para probar transmisión transovárica en *T. vaporarium* es utilizando el primer instar ninfal mientras es móvil, ya que la seguridad, rapidez en la obtención de los datos y la sobrevivencia después de que se traspasan a plántulas indicadoras es muy alta.
- Debido a que el insecto vector con el tiempo pierde la capacidad de transmisión y a la prueba negativa de la transmisión transovárica, se puede afirmar que esta enfermedad no se multiplica en su vector y que el tipo de transmisión es el semipersistente.

## BIBLIOGRAFIA

- BIRD, J. 1986. Geminivirus y sus vectores. Revista Mexicana de Fitopatología v.4 no. 1, p. 63-67.
- BURITICA, P. 1971. Estudios de transmisión de amarillamiento de las venas de la papa. En Instituto Colombiano Agropecuario. Programa Nacional de Fitopatología. Informe anual. Bogotá, ICA, p. 111-113.

- COHEN, S.; NITZANY, F.E. 1966. Transmission and host range of the tomato yellow leaf curl virus. *Phytopathology* (Estados Unidos) v. 56. p. 1127-1131.
- COSTA, A.S. 1976. Whitefly-transmitted plant diseases. *Annual Review of Phytopathology* (Estados Unidos) v. 14, p. 429-449.
- DIAZ, M.C.; PULGARIN, J.M.; SALDARRIAGA, A. 1989. Relaciones insecto-patógeno en el problema del "amarillamiento de las venas de la papa". *En* Congreso Sociedad Colombiana de Entomología, 16o. Medellín, julio 25-28, 1989. Medellín, SOCOLEN, p. 15.
- DORST, H.J.; HUIJBERTS, N. van; BOS, L. 1983. Yellow of glasshouse vegetables, transmitted by *Trialeurodes vaporariorum*. *Netherlands Journal of Pathology* v. 89, p. 171-184.
- DUFFUS, J.E. 1973. The yellowing virus diseases of beet. *Advances in Virus Research* (Estados Unidos) v. 18, p. 347-386.
- HARRIS, K.F. 1979. Leafhoppers and aphids as biological vectors: vector-virus relationships. *En* Maramorosh K.; Harris, K.F. (Eds.), *Leafhopper vectors and plant disease agents*. New York, Academic Press, p. 217-295.
- MOUND, L.A.; HALSEY, S.H. 1978. Whitefly of the world. Chichester, British Museum and John Wiley and Sons. p. 340 p.
- NAVARRO, R.; ZAPATA, J.L.; TAMAYO, P.J. 1984. Observaciones sobre la transmisión del virus del amarillamiento de venas de la papa (VAVP). *Ascolfi informa* (Colombia) v.10. no. 4, p. 34.
- RUSSEL, L.M. 1975. Whiteflies on beans in the Western hemisphere. Workshop on bean production. CIAT, Cali-Colombia. 22 p.
- SALDARRIAGA, A. 1987. Estudio integral del amarillamiento de venas en la región papera del Oriente Antioqueño. Informe anual. Proyecto Cooperativo ICA-CIP. Medellín. 33p.
-