

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AGRICOLAS

TRANSMISION DE LA ENFERMEDAD CONOCIDA COMO VIROSIS DEL ALGODON  
(GOSSYPIUM HIRSUTUM), POR MEDIO MECANICO, SEMILLA  
Y SU VECTOR LA MOSCA BLANCA (BEMISIA TABACI)

JORGE BOLAÑOS PAGRAM

GUATEMALA 1987



TRANSMISION DE LA ENFERMEDAD CONOCIDA COMO VIROSIS DEL ALGODON  
(GOSSYPIUM HIRSUTUM), POR MEDIO MECANICO, SEMILLA  
Y SU VECTOR LA MOSCA BLANCA (BEMISIA TABACI)

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AGRICOLAS


TRANSMISION DE LA ENFERMEDAD CONOCIDA COMO VIROSIS DEL ALGODON,  
(GOSSYPIUM HIRSUTUM), POR MEDIO MECANICO, SEMILLA  
Y SU VECTOR LA MOSCA BLANCA (BEMISIA TABACI)

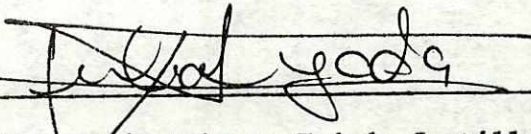
JORGE BOLAÑOS PAGRAM

Trabajo de Investigación presentado para  
optar al título de Ingeniero Agrónomo  
en el grado académico de  
Licenciado en Ciencias Agrícolas


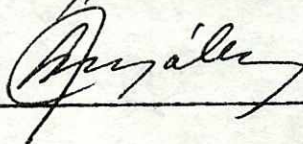

Guatemala  
1987

Bo. Bo.:

(f)   
Ingeniero Agrónomo Carlos René Granillo (Ms. Sc.)  
Asesor

~~(f) ~~  
~~Ms. Sc. Julio Roberto Tejada Castillo~~  
~~Asesor~~

Tribunal:

(f)   
(f)   
(f) 

Fecha de aprobación:

Tesis que dedico:

A mis padres:

Oscar Humberto Bolaños Aguilar

Betty Pagram de Bolaños

A mi abuelita:

Marta Capoulleiz

A la Familia Quirós

A mis amigos

Y muy especialmente a:

Minor Keilhauer

A G R A D E C I M I E N T O

Agradezo a las siguientes personas e instituciones que colaboraron para poder realizar el presente trabajo.

Ing. Agr. Carlos René Granillo (Ms. Sc.)

Ms. Sc. Julio Roberto Tejada

Ing. Agr. Horacio Villavicencio

Enrique Lozano Bauer

Vivian Andrade Krings

Universidad del Valle de Guatemala

Consejo Nacional del Algodón

Tabacalera Centroamericana

Desmotadora La Garrucha, S.A.

## C O N T E N I D O

	<u>PAGINAS</u>
<b>RESUMEN</b> .....	ix
<b>I. INTRODUCCION</b> .....	1
<b>II. REVISION DE LITERATURA</b>	
A) Sinónimos de <i>Bemisia Tabaci</i> .....	3
B) Rango hospedero.....	4
C) Enfermedades del Algodón asociadas con virus.....	4
1. Virus del Mosaico de Abacá.....	4
2. Virus del Arrugamiento de la hoja del Hibiscus.....	5
3. Mosaico Amarillo de Hibiscus.....	5
4. Moteado de la hoja de <i>Gossypium barbadense</i> .....	5
5. Psyllosis del Algodón.....	5
6. Stenosis del Algodón.....	5
7. Enrollamiento de la hoja del algodón.....	6
8. Arrugamiento de la hoja (leaf curl) del algodón.....	7
9. Virus del Encrespamiento de la hoja del algodón.....	7
D) Geminivirus.....	10
<b>III. MATERIALES Y METODOS</b> .....	13
A) Preparacion de Plantas.....	13
B) Transmisión Mecánica.....	14
1. Preparación de Material.....	14
2. Fuente de inóculo.....	14
3. Inoculación.....	14
C) Transmisión con <i>Bemisia tabaci</i> .....	15
1. Establecimiento de colonias.....	15
2. Prueba de Pureza.....	18
3. Adquisición del Virus.....	18
4. Inoculación.....	20
5. Control.....	20
6. Toma de datos.....	20
D) Transmisión por Semilla.....	20
<b>IV) RESULTADOS Y DISCUSION</b> .....	23
A) Transmisión Mecánica.....	23
B) Prueba de pureza de las colonias de <i>Bemisia tabaci</i> .....	23
C) Prueba de transmisión con el vector <i>Bemisia tabaci</i> .....	23
1) Porcentaje de infección.....	23
2) Descripción de los síntomas observados.....	26

	PAGINAS
V) CONCLUSIONES.....	31
A) Transmisión Mecánica.....	31
B) Transmisión por semilla.....	31
C) Transmisión por <u>Bemisia tabaci</u> .....	31
VI) BIBLIOGRAFIA.....	33

LISTA DE FIGURAS Y CUADROS

<u>FIGURAS</u>	<u>PAGINAS</u>
1) Diagrama de flujo de la transmisión mecánica.....	16
2) Jaulas para la reproducción de <u>Bemisia tabaci</u> y adquisición de virus.....	17
3) Cajas de inoculación.....	19
4) Diagrama de flujo de la Transmisión por <u>Bemisia tabaci</u> .....	21

<u>CUADROS</u>	<u>PAGINAS</u>
1) Número de plantas infectadas durante los 45 días de observación en la Transmisión Mecánica.....	24
2) Número de plantas infectadas obtenidas durante los 45 días de observación en la Transmisión con <u>Bemisia tabaci</u> .....	25
3) Porcentajes acumulados de plantas infectadas de algodón STV-213 durante los 45 días de observación en la Transmisión con <u>Bemisia tabaci</u> .....	27
4) Porcentajes acumulados de plantas infectadas de Kenaf G-45 durante los 45 días de observación en la transmisión con <u>Bemisia tabaci</u> .....	28
5) Porcentajes acumulados de plantas infectadas de frijol Pié de Zope durante los 45 días de observación en la transmisión de <u>Bemisia tabaci</u> .....	29

## R E S U M E N

Durante los últimos cinco años, la enfermedad conocida como "Virosis del algodón", ha sido un problema serio en Guatemala, encontrándose diseminada en todas las zonas algodnneras. La enfermedad produce distintos tipos de mosaico en la hoja del algodón (Gossypium hirsutum). Se le ha asociado con un virus y con la presencia de Mosca Blanca (Bemisia tabaci, Genn.).

Para la transmisión mecánica y por B. tabaci, realizada en invernadero, se utilizaron plantas de algodón variedad Stoneville 213, Kenaf, -- (Hibiscus cannabinus) variedad G45, frijol (Phaseolus vulgaris), variedad Pata de Zope y tabaco (Nicotiana tabacum) variedad Burley. Para la transmisión por semilla, se utilizaron semillas de algodón variedad Stoneville 213.

La transmisión mecánica y por semilla resultó negativa. En cambio la transmisión por B. tabaci, resultó positiva para el algodón, kenaf y frijol, con un porcentaje de infección de 80% de plantas a los 34 días, 83.33%, de plantas a los 21 días y 56% de plantas a los 28 días respectivamente.

## I N T R O D U C C I O N

En Guatemala, el cultivo del algodón (Gossypium hirsutum), es de importancia económica por generar divisas al país y social debido a que proporciona abundante fuente de trabajo (14).

Durante los años de 1962-1969 al eliminarse las plantaciones de banano, aparecen los primeros ataques de B. tabaci. En 1964 hace su aparición la Virosis del algodón en las zonas de Tiquisate y La Garrucha (14).

A B. tabaci, se le ha asociado la transmisión de una enfermedad, la cual en el algodón se manifiesta con clorosis y mosaicos de distintos tipos, disminución del tamaño de la hoja y la planta en general, causa una hipertrofia del tejido intervenal de las hojas, que aumenta hasta provocar un arrugamiento y ampollamiento total de la hoja: Esta enfermedad también se le ha asociado con la disminución del tamaño de las flores y por consiguiente de la bellota. Todo esto da como resultado la disminución de la cosecha.

En los cultivares de algodón, los niveles de infección de la enfermedad aumentan conforme aumentan los niveles de población de B. tabaci (14). Por la década del setenta, se han reportado los mayores incrementos de población de B. tabaci en los meses de octubre y noviembre, no así en los últimas cuatro temporadas agrícolas, en las cuales se pudo observar grandes cantidades de B. tabaci en las primeras etapas de desarrollo del cultivo y también en plantas hospederas vecinas a las áreas de siembra.

Lo anterior es respaldado si observamos que en 1982-83, del 100% de los gastos para el control de plagas, el control de B. tabaci ocupaba el 17%; en 1983-84 se incrementó al 23% siendo el principal rubro, sobre las otras plagas (14).

Es frecuente encontrar plantas en las zonas contiguas a los cultivos de algodón, que presentan también los síntomas antes descritos y se les suele atribuir como plantas hospederas del virus del algodón.

El presente trabajo está incluido dentro del programa creado entre el - Consejo Nacional del Algodón y la Universidad del Valle de Guatemala, con la colaboración de entidades interesadas.

Los resultados de las investigaciones realizadas para este trabajo, pretenden contribuir y dar a conocer bases para una mejor comprensión de esta - seria enfermedad como lo es la virosis del algodón.

En relación a los aspectos mencionados y debido al daño que este virus causa a la planta del algodón, se considera importante realizar este estudio cuyos objetivos se detallan a continuación:

- 1) Transmitir el virus del algodón a cultivos de importancia económica los cuales se reportan como hospederos de Mosca blanca, B. tabaci.
- 2) Probar la transmisión del virus por medio de un método que excluya el vector B. tabaci.
- 3) Probar la persistencia del virus en semillas de algodón provenientes de plantas infectadas con el virus.

Ho:

- 1) La "Virosis del algodón" puede ser transmitida por medio mecánico.
- 2) La "Virosis del algodón" se transmite através de la semilla.
- 3) La "Virosis del algodón" es transmitida por B. tabaci.

## II. REVISION DE LITERATURA

### A) Sinónimos de Bemisia tabaci

Necesario es, tener el conocimiento de que la Mosca blanca, Bemisia tabaci, cuenta en su clasificación taxonómica con varios sinónimos. A menudo se encuentra literatura de carácter entomológico o patológico, en la cual se hace referencia a alguno de dichos sinónimos (23,33).

A continuación se presenta la lista de sinónimos encontrados:

- Aleurodes tabaci, Gennadius, 1889
- Bemisia tabaci, (Gennadius) Takahashi 1937
- Aleyrodes incospicua, Quaintance 1900
- Bemisia inconspicua, (Quaintance) Quaintance y Balder 1914.
- Bemisia costa-limai, Bondar 1928
- Bemisia signata, Bondar 1928
- Bemisia bahiana, Bondar 1928
- Bemisia gossypiperda, Mirsa y lamba
- Bemisia hibici, takahashi 1933
- Bemisia longispina, Priesner y Hosny 1934
- Bemisia goldingi, Corbett 1935
- Bemisia ingeriensis, Corbett 1935
- Bemisia rhodesiaensis, Corbett 1936 (23,33).

## B) Rango hospedero

Se ha reportado que la Mosca blanca, tiene un rango hospedero de 150-152 especies de plantas dentro de 30 a 32 familias. Algunas de estas familias como Leguminoceae, Solanaceae y Malvaceae son especialmente importantes para el hombre como fuente de alimento y de ingresos económicos (4, 23, 26 y 29). El Museo de Historia Natural Británico, en su catálogo: "White-fly of the World", cuenta con el listado de especies de plantas hospederas de B. tabaci y el país del cual fué reportada cada una de estas plantas (26).

Guatemala, siendo productor de algodón durante muchos años, y pese a tener problemas serios con B. tabaci y la enfermedad que transmite, no cuenta con estudios científicos con respecto a este tema.

## C) Enfermedades del Algodón asociadas con virus

En Guatemala se reporta en 1964, la aparición de la virosis asociada a B. tabaci en el algodón (39). Muchos son los trabajos de investigación en todo el mundo que reportan la aparición de virus transmitidos por B. tabaci: Por ejemplo, Mosaico amarillo del Dolichos lablab (12), Virus del mosaico del camote, Ipomoea batata (36), Mosaico dorado de cowpea (2), Arrugamiento de la hoja de Cucurbita maxima (22), Moteado leve del Cowpea (27), Virus del amarillamiento y arrugamiento de la hoja del tomate (5), Virus del mosaico dorado del frijol.

En el presente trabajo se describen algunas enfermedades y virosis reportadas en plantas de la familia Malvaceae, asociados a Mosca blanca y otros vectores.

### 1) Virus del Mosaico de Abacá (Abutilón)

Esta enfermedad se reporta que se transmite por B. tabaci, causando una variegación en la planta. Muchas especies de Abacá fueron reportadas susceptibles (anónimo).

2) Virus del Arrugamiento de la hoja del Hibiscus

Observado por primera vez en Hibiscus rosa-siniensis, transmitido por B. tabaci. Los síntomas observados fueron un moteado clorótico en las hojas, aparecimiento de "enations" (apéndices en el envés de la hoja) y posteriormente un arrugamiento en los bordes de las mismas (28).

3) Virus del Mosaico amarillo del Hibiscus

Esta enfermedad se reporta que es transmitida por B. tabaci, causando puntos amarillos cerca del borde de la hoja a los 15-20 días post-infección. Luego se desarrolla una clorosis la cual se extiende rápidamente en toda la hoja (12).

4) Moteado de la hoja de Gossypium barbadense

Descrito en Sudán por Nour (1959), el síntoma de moteado, aparece en las hojas jóvenes, este moteado tiende a producirse cerca de las venas de las hojas, las cuales tienden a elongarse y a distorcionarse y también la floración se reduce aparentemente. En experimentos de laboratorio, utilizando B. tabaci, Aphis gossypii y Empoasca lybica, los síntomas no se desarrollaron (37).

5) Psyllosis del Algodón

Fuë reportada en el Congo Belga en 1940 y es asociada a un virus. Los síntomas incluyen la producción de escamas en forma de rosetas, tinción de color morado en las hojas viejas y pecíolos y por último esterilidad. Es transmitida por larvas de Paurocephala gossypii (Homóptera - Hemiptera, psyllida (37).

6) Stenosis del algodón

Esta enfermedad fuë reportada en Pakistan y la India y descrita por Kottur y Patel en 1920. Es asociada a un virus y presenta síntomas de tamaño de las

hojas, produce malformación de los racimos, reduce el número de lóbulos en las hojas. Las flores poseen ovarios abortados, las bellotas que sobreviven son anormalmente chicas y poseen semillas viables pequeñas (37).

Los síntomas también son visibles en casi todas las ramas de la planta infectada. Las raíces también son afectadas por esta enfermedad, en cuyo caso la raíz principal está mal formada y con una abundante producción de raíces secundarias.

Se ha observado que en G. hirsutum, esta enfermedad produce "enations", bajo la superficie de la hoja. Esta enfermedad se ha reportado también en G. arboreum, G. herbaceum y G. barbadense (37).

Esta enfermedad se puede transmitir por injerto pero se desconoce si es transmisible por semilla, por el suelo o bien por algún insecto vector, (37).

#### 7) Enrollamiento de la hoja del Algodón

Esta enfermedad inicialmente fue descrita como cucurvatura o rizado de la hoja (leaf curl) por Feigson 1936 y Moskovets en 1937. Plantas que representaban esta enfermedad tenían la tendencia a curbarse, las hojas presentaban su margen clorótico, los tallos y pecíolos presentaban un color rojizo y la fructificación era muy reducida. La enfermedad se presentaba por zonas en los campos infectados.

Esta enfermedad se distingue de las otras claramente ya que su vector es áfidos Aphis gossypii. En experimentos fueron susceptibles a dicha enfermedad el Gossypium barbadense, G. hirsutum, Hibiscus cannabinus y Solanum dulcamara (37).

8) Arrugamiento de la Hoja (leaf curl) del Algodón.

Esta enfermedad fué descrita y detallada por Tarr en 1951, es asociada al *Gossypium virus 1 Smith*, Ruga gossypii (Holmes). Hizo su aparición en la República de Sudán, Nigeria y probablemente en otras partes del Oeste africano, en los años 1926 y 1931. (37, anónimo).

Esta enfermedad se manifiesta en varias formas:

- a) Manifestación de un mosaico leve en las hojas, acompañado de un engrosamiento de las venas y algunas veces producción de "enations", reducción de la hoja en un solo lóbulo.
- b) Reducción del tamaño de la hoja y curvatura de la superficie de la misma;
- c) Progresiva reducción de los entrenudos, hojas y parte floral, engrosamiento de las venas pero no se presenta mosaico. Estas manifestaciones se desarrollaron en G. hirsutum y G. barbadense (37)

La transmisión de dicha enfermedad se le atribuye a B. tabaci, la cual se identifica en los países africanos como B. gossypiperda y B. goldingi en Nigeria. (37).

9) Virus del Encrespamiento de la hoja del algodón (Leaf crumple)

Este virus ha sido reportado por los países productores de la fibra. En todos los casos dicho virus ha sido asociado con ataques severos de B. tabaci. Son áreas endémicas del virus, las regiones tropicales y subtropicales en las cuales se cultiva el algodón.

Para Guatemala y otros países del área Centroamericana, la virosis ha sido reportada durante las temporadas de los años setentas (39).

A partir de esas fechas, las pérdidas en los rendimientos cada año, han sido mayores. Su vector B. tabaci ha pasado a ser la plaga más importante junto con el picudo (Anthonomus grandis).

En Estados Unidos, la enfermedad se describió por primera vez en California en 1950, seguidamente en el estado de Arizona en 1958. Ambos brotes ocurrieron en forma esporádica, por lo cual no fué tomada con gran consideración (32, 37).

En 1981 hace su aparición nuevamente el virus del arrugamiento de la hoja del algodón en Mexicali y Arizona con lo cual la enfermedad ha cobrado importancia (34).

La enfermedad se manifiesta con una hipertrofia de las venas de las hojas, causa arrugamiento, clorosis y mosaico, también disminuye el tamaño de la planta (37).

Los estudios se iniciaron con la evaluación a la susceptibilidad del virus, con un grupo de 8 variedades que son utilizadas en el Valle de Yuma en Arizona. Como resultado se obtuvo que todas las variedades fueron susceptibles a la virosis, aunque algunas se mostraron más susceptibles que otras (32).

Se ha demostrado en estudios recientes que el virus del algodón causa una disminución en el tamaño de botones florales, por consiguiente disminución en el tamaño de la bellota, afecta también el número de bellotas producidas y por último disminuye la calidad de la fibra. (1,9,10).

Los estudios han continuado con la evaluación de la enfermedad del arrugamiento de la hoja en algodón, el cual ha sido inoculado en tres distintos estados de crecimiento.

Las inoculaciones se realizaron cuando el algodón tenía de 2-3, 8-10 y 14-16 hojas, con el fin de simular infecciones temprana, media y tardía respectivamente (9,10).

En este trabajo, las infecciones temprana y media produjeron plantas más pequeñas que las del control, mientras que no hubo diferencia significativa entre las plantas infectadas tardíamente y el control (9,10).

Así mismo, plantas con infección temprana y media produjeron menos bellotas que los otros dos tratamientos. Adicionalmente, se obtuvo también que en los dos primeros tratamientos tenían menos bellotas abiertas que en los tratamientos tardíos y control; por consiguiente se le atribuye que la infección virótica causa un efecto negativo en la madurez de las bellotas (9,10).

Así mismo, se ha demostrado que en infecciones tempranas y medias, la sintomatología del virus del algodón es más severa que para el caso de una infección tardía (9,10).

Los resultados de estos trabajos realizados con respecto al número de bellotas producidas, con infecciones tempranas ha demostrado que unas variedades son más susceptibles que otras (11).

El Encrespamiento del algodón, también ha sido relacionada con aspectos de calidad. Se ha demostrado que la virosis del algodón causa una disminución en el número de semillas, tamaño de las mismas, disminuye la cantidad y las características intrínsecas de la fibra de algodón. (10,11,38).

Aunque existen otros trabajos, en los cuales se sugiere que la virosis del algodón, afecta únicamente la longitud de la fibra y no alguna otra de sus características como el espesor, fineza, cantidad por bellota (32).

Otro aspecto estudiado conjunto al efecto de la virosis sobre la fibra, es que altas poblaciones de las ninfas de B. tabaci, dañan la calidad de fibra. (30).

Las ninfas y los adultos de B. tabaci consumen grandes cantidades de sa

bia la cual excretan en forma de teranosa y otros carbohidratos. Esta contaminación es difícil de detectar a nivel de campo pero se ha demostrado que repercute a nivel industrial (30).

Se ha demostrado también que esa contaminación de la fibra, da como resultado un medio propicio para la proliferación de hongos tales como Aspergillus niger, bacterias y otros microorganismos que pese a consumir mucha azúcar, tienden a manchar la fibra, con lo cual disminuye su aceptación (20,21).

Finalizando con los virus asociados con B. tabaci, tenemos que dicho insecto se reporta también como responsable de provocar arrugamientos en la hoja en las siguientes plantas: Chile (Capsicum annum), Papaya (Carica papaya), Geranio (Geranium pelargonium) y tabaco (Nicotiana tabacum) (anónimo).

La Mosca blanca, B. tabaci, es responsable de causar muchas enfermedades virales en plantas, la hacen un vector eficiente, la capacidad de adquirir los virus en corto tiempo, retener, y transmitir los virus por períodos prolongados. (6).

Otros factores muy importantes son el poseer ciclos de vida cortos, altas tasas de natalidad y un rango amplio de resistencia a insecticidas.

#### D) Geminivirus

Los geminivirus son un grupo de virus descubiertos recientemente, son transmitidos a plantas por mosca blanca y salta hojas. Son partículas de 18-20 nm, las cuales ocurren predominantemente en pares (25).

Algunas enfermedades transmitidas por mosca blanca, se cree que son geminivirus y que son específicos de este vector aunque aún se desconoce la etiología de las mismas (25).

Se han agrupado como geminivirus por las siguientes características:

- 1) Su tamaño tan pequeño y su apareamiento en partículas gemelas.
- 2) La evidencia de que estos virus contienen un solo ADN infectivo de cadena corta (25).

El virus del encrespamiento del algodón, actualmente se ha asociado con los geminivirus. Un aspecto muy inquietante es el hecho que de 12 virus ya clasificados en el taxón de geminivirus, 6 son transmitidos por B. tabaci, y son ellos El Virus del mosaico dorado del tomate, Virus del amarillamiento tenue del tomate, Virus del arrugamiento de la hoja del tabaco y El Virus del mosaico amarillo del Mungbean. Estos 6 virus producen amarillamiento en la hoja, y a su vez en trabajos citológicos se les ha encontrado asociados con el floema (24,25)

Se tiene el conocimiento también que el rango de las plantas hospederas de los geminivirus es más restringido que el de los otros grupos de virus. (25).

Los geminivirus están distribuidos en áreas tropicales y subtropicales aunque esto se cree que se debe a la distribución de sus vectores (13).

Trabajos realizados en el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, han demostrado que existe una relación directa entre las poblaciones de B. tabaci y la incidencia de la enfermedad conocida como Virus del mosaico amarillo del tomate, el cual es un geminivirus (3).

El Virus del mosaico de la Euphorbia fue purificado por infección en plantas de nicotiana benthamiana y nicotiana glutinosa por transmisión mecánica (24).

Los síntomas de la enfermedad iniciaron a los 5-8 días después de la inoculación mostrando áreas cloróticas en la base de las hojas jóvenes y seguidamente se inició el moteado amarillo en las hojas maduras (24).

En la purificación de este geminivirus se encontró que a los 7 días después de la inoculación el rango de concentración del virus fué del 10% rango que aumenta a 75% a los 10 días post-inoculación y decrece 15% a los 15 días post-inoculación (24).

Otras enfermedades como El Virus del arrugamiento de la hoja en Cucurbita máxima, C. pepo y C. moschata, han sido estudiados (16).

Se reporta la capacidad de este geminivirus para permanecer latente dentro del vector B. tabaci por largos períodos (16).

Con respecto al virus del encrespamiento de la hoja del algodón, actualmente se ha trabajado en la purificación de este virus en la Universidad de Arizona.

El virus del algodón fué transmitido por B. tabaci a frijol Phaseolus vulgaris y a Malva parivlfora para purificación y análisis en microscopia electrónica (7).

Los resultados de estos trabajos, reportan la aparición de partículas gemelas, con estructura angular y de un tamaño de 17-20 nm y 18-20 nm x 30-32 nm en diámetro. Dichas partículas se les agrupo en la clasificación de geminivirus. (7,8).

Estos trabajos reportan también que el virus no pudo ser transmitido por medios mecánicos ni por semilla (7,8)

### III. MATERIALES Y METODOS

#### A. Preparación de Plantas

Los trabajos de laboratorio e invernadero del presente estudio fueron realizados en la Universidad del Valle de Guatemala.

Para la siembra de las plantas en experimentación, se utilizó una mezcla de dos partes de arcilla, una parte de arena y una parte de materia orgánica. Esta mezcla se realizó en un tanque de duralita de un metro cúbico de capacidad y fué desinfectada con una libra de bromuro de metilo por tanque.

Con este suelo se llenaron macetas de 1 litro de capacidad y 15 cm de diámetro, las cuales fueron colocadas dentro del invernadero de experimentación agrícola.

Tanto para la transmisión mecánica, como para la transmisión por vector, se sembraron las siguientes plantas: algodón variedad STV-213, kenaf variedad G-45, frijol variedad Pata de zope y tabaco variedad burley. Cada tratamiento incluyó 30 plantas.

Las semillas utilizadas en el experimento fueron proporcionadas por las siguientes Empresas e Instituciones: Algodón: Desmotadora La Garrucha, Kenaf: por la Planta Procesadora de kenaf; Frijol: por el Instituto de Ciencias y Tecnología Agrícola (ICTA) y el tabaco, por la Tabacalera Centroamericana, Sociedad Anónima.

Durante el período de observación a todos los grupos de transmisión mecánica, por vector y por semilla, se les aplicaron los siguientes tratamientos; una aplicación de solución Hoglan a los 7 días de la germinación con el propósito de suplir a las plantas de elementos mayores y menores, también

aspersiones periódicas con fungicidas e insecticidas para evitar el ataque de otros patógenos y riego continuo.

#### B. Transmisión Mecánica

Este paso consistió en tratar de transmitir el virus del algodón, por un método que excluye al vector B. tabaci.

1. Preparación de Material. Se preparó una solución buffer con una combinación de fosfato de potasio monobásico y fosfato de potasio dibásico, ambos a una concentración de 0.2 molar. Se mezclaron y con ayuda del potenciómetro se reguló la solución buffer a un pH de 7.0.

2. Fuente de Inóculo. Esta consistió en plantas de algodón de la variedad Stoneville-213, las cuales fueron colectadas y se sembraron en macetas plásticas de 12 litros de capacidad y 35 cm. de diámetro, las cuales seguidamente fueron traídas al laboratorio de Ciencias Agrícolas de la Universidad del Valle de Guatemala.

3. Inoculación. Con la ayuda de morteros y pistilos esterilizados en la autoclave, se procedió a macerar tejido apical de la fuente de inóculo, a razón de 10 g. de tejido más 30 ml. de la solución buffer.

Seguidamente se espolvoreó "Carborundum" (silicón carbide) sobre el tejido a ser inoculado. El cual presentaba el siguiente desarrollo para cada uno de los tratamientos: algodón, hojas cotiledonales; kenaf, hojas cotiledonales; frijol, primer par de hojas verdaderas; y tabaco, primeras hojas desarrolladas.

Con la ayuda de una gasa esterilizada, se procedió a frotar extracto de macerado, a las partes de las plantas que tenían carborundum, con la intención de facilitar la penetración del virus.

Seguidamente se aplicó a las plantas un lavado suave y con abundante agua, para remover los residuos de tejidos y de carborundum, Fig. 1.

4. Control. Este consistió en dos plantas de cada tratamiento, a las cuales se les aplicó el carborundum y frotamiento con la solución buffer, sin macerado de plantas viróticas.

5. Toma de datos. Las Plantas fueron observadas por un período de 45 días en espera de algún síntoma que indicara la efectividad del tratamiento.

#### C. Transmisión con Bemisia tabaci:

1. Establecimiento de colonias de B. tabaci. El establecimiento se inició con la recolección de ninfas de mosca blanca en distintos cultivos de algodón. Dicha recolección consistió en cortar hojas de algodón, las cuales contenían abundante población de ninfas e introducir las hojas en cajas de Petri previstas de una toalla de papel húmeda.

Las cajas de Petri fueron llevadas al insectario de la Universidad del Valle e introducidas en jaulas de 70 x 70 x 98 centímetros, Fig. 2, con el propósito de que de las ninfas eclosionaran los adultos de B. tabaci.

Dentro de cada jaula habían colocadas cinco macetas plásticas de 1 Lt. de capacidad y 15 cm. de diámetro, las cuales contenían plantas de camote (Ipomoea batata) Estas plantas se utilizaron como fuente de alimento y sustrato para reproducción de los adultos de B. tabaci.

El insectario estaba cubierto, en sus laterales y en su parte superior por fibra de vidrio de color blanco. Cuenta también con una serie de

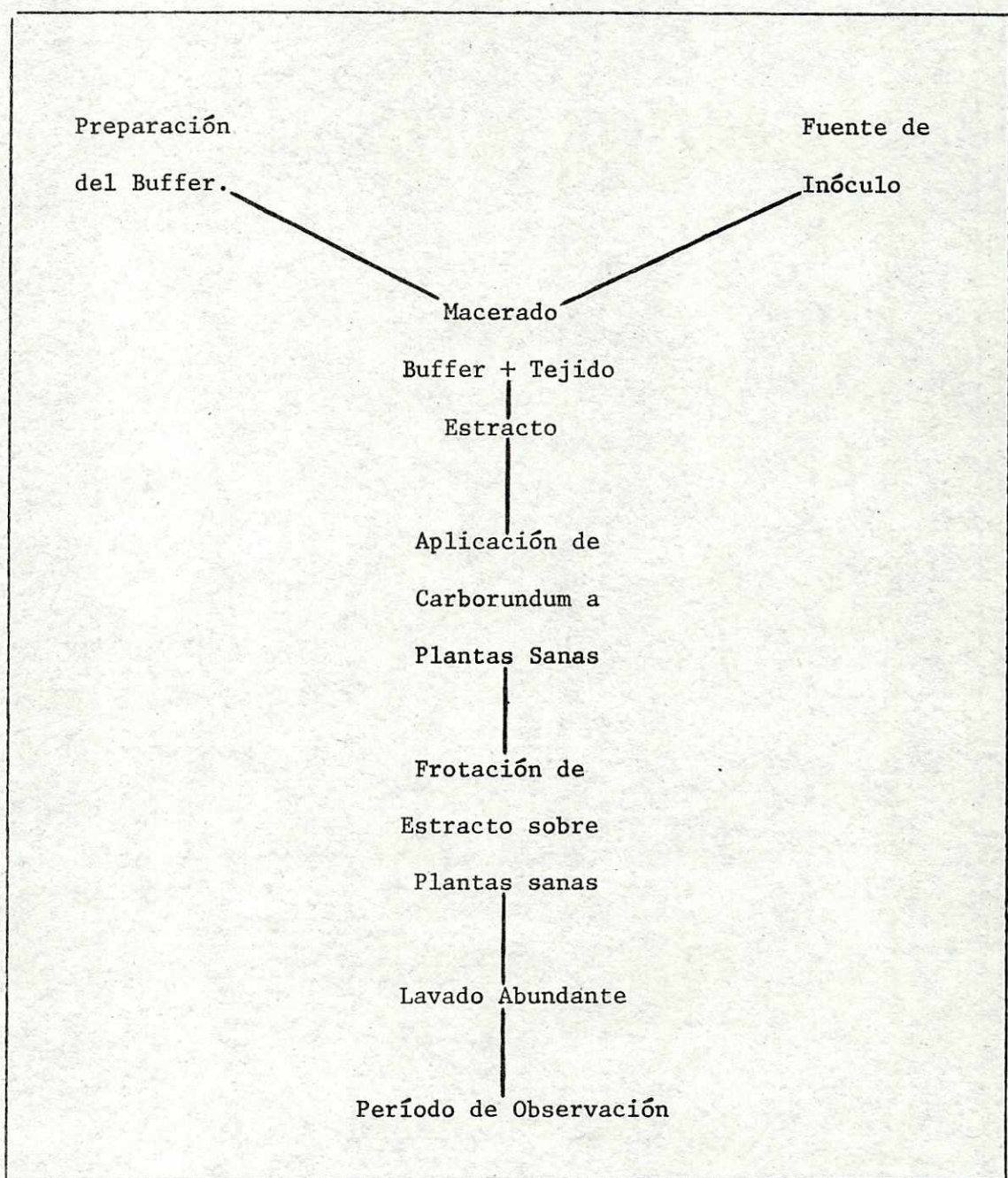


FIGURA 1. DIAGRAMA DE FLUJO DE LA TRANSMISION MECANICA.

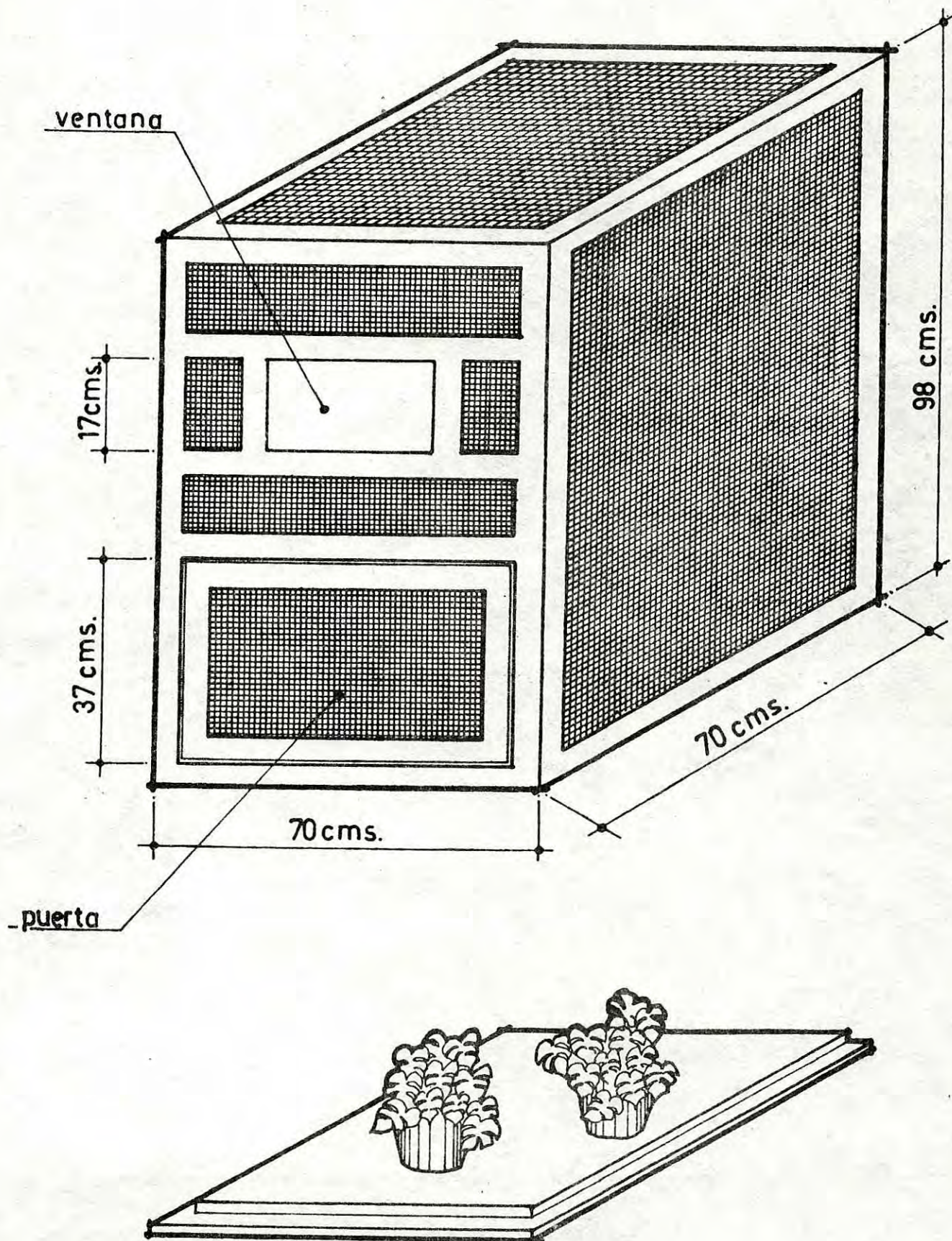


FIGURA 2. Jaulas para Reproducción de *Bemisia tabaci* y Adquisición de Virus

ventanas para su ventilación durante el día y un calentador activado por medio de un timer para mantenimiento de temperatura durante la noche. La temperatura promedio máxima fué de 40 grados centígrados y una temperatura promedio mínima de 12 grados centígrados a lo largo de los 16 meses de duración del presente trabajo.

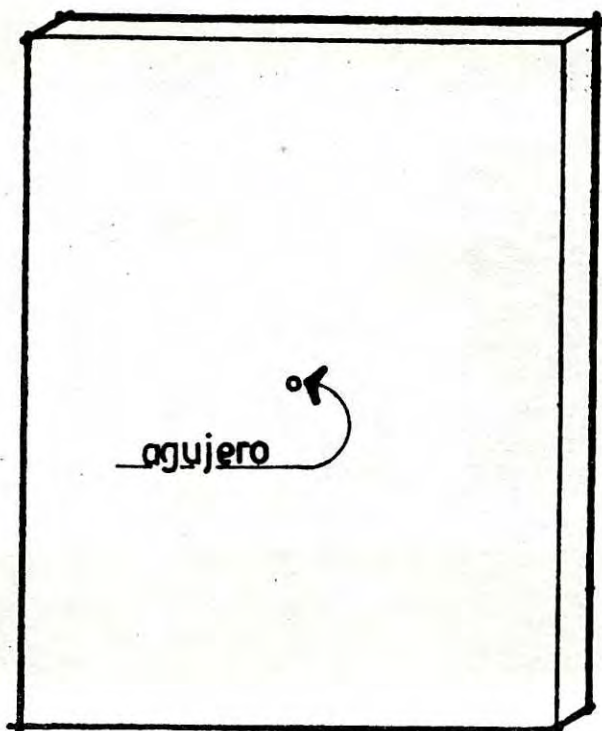
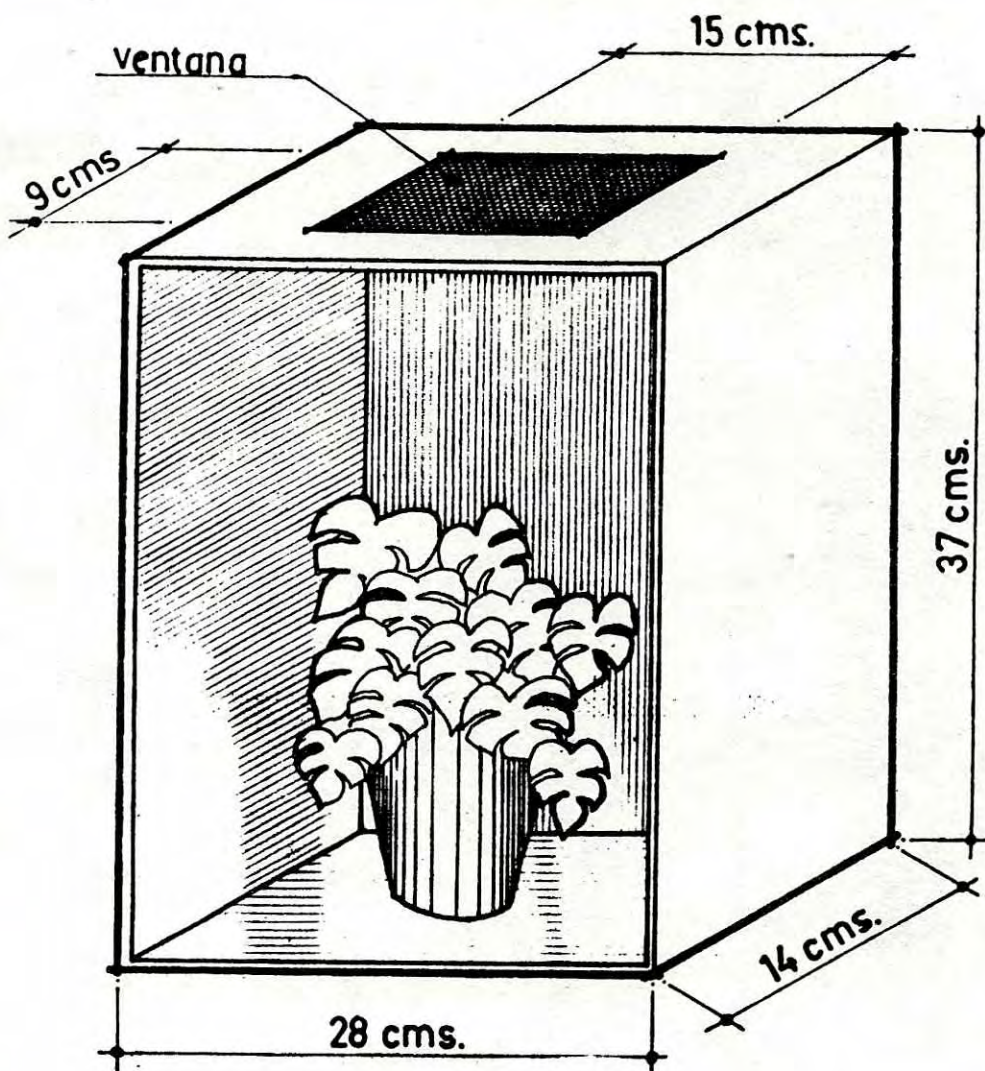
Las plantas de camote se renovaron alternativamente cada 25 días con la intención de mantener fuente de alimento y sustrato para el cultivo de generaciones posteriores.

2) Prueba de Pureza. Esta prueba se realizó para saber si la B. tabaci del insectario, estaba libre de virus.

Para esta prueba se utilizaron 15 plantas de algodón de la variedad - STV-213, las cuales se colocaron en cajas de plástico transparente de 37 x 28 x 14 centímetros, Fig. 3, introduciendo una planta en cada caja. Luego, se introdujeron 50-60 moscas a cada caja por medio de micro-pipetas de succión y se dejaron por un período de 48 horas. Seguidamente se procedió a eliminar las moscas por medio de una aspersion de FMC 54-800 (bifenthrin), a razón de 1,5 ml. por lt. de agua.

Luego las plantas se trasladaron al invernadero y se observaron por 45 días con el propósito de verificar la presencia de algún síntoma.

3) Adquisición del virus. Grupos de 900-1000 moscas blancas por cada tratamiento, fueron colectadas por pipetas de succión de 15 cm. de largo por 1cm. de ancho. Estas fueron transferidas a la fuente de inóculo. La fuente de inóculo se encontraba en una jaula de 70 x 70 x 98 cm., Fig. 2 cubierta por organdí y provista de una ventana y puerta para liberar las moscas. El tiempo de adquisición del virus fué de 24 horas.



4. Inoculación. Cada tratamiento se inoculó cuando las plantas presentaban el siguiente desarrollo; algodón, kenaf, frijol y tabaco en la primera hoja bien desarrollada. Cada planta de su respectivo tratamiento fué colocada en una caja plástica transparente. Fig. 3.

Grupos de 50-60 moscas fueron colectadas de la fuente de inóculo e introducidas en las cajas plásticas con su respectiva planta por un período de 48 horas para asegurar la transmisión del virus.

Luego de completar las 48 horas, se procedió a la eliminación de las moscas por medio de una aspersión de FMC 54-800 bifenthrin , a razón de 1.5 ml. por 1 litro de agua. Seguidamente las plantas fueron transferidas al invernadero para su observación durante 45 días Fig. 4.

5. Control. Consistió en introducir grupos de 50-60 moscas en dos plantas de cada uno de los tratamientos. Estas no fueron pasadas por la fuente de inóculo. Se dejaron por un período de 48 horas y luego se procedió a eliminarlas por medio de una aspersión de FMC 54-800 (bifenthin) a razón de 1.5 ml. por 1 lt. de agua.

6. Toma de Datos. Se observaron durante 45 días anotando en hojas de formato, el nombre del cultivo, variedad, fecha de inoculación, período de adquisición, período de inoculación, número de plantas con síntomas y observaciones.

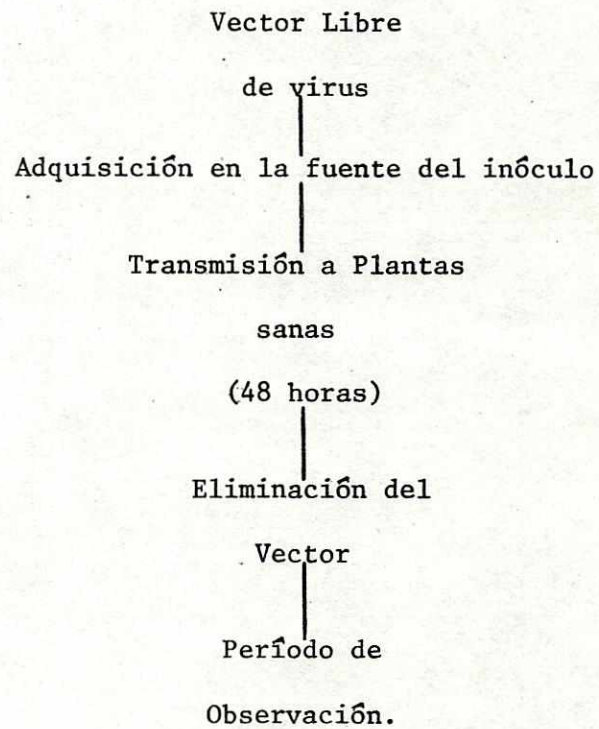
#### D) Transmisión por semilla

Para el efecto se realizaron dos tratamientos. El primero, con semillas colectadas en cultivares de algodón infectadas naturalmente y el segundo, con semillas de plantas infectadas en la Universidad, las cuales habían sido seleccionadas como fuentes de inóculo.

FIGURA 4. DIAGRAMA DE FLUJO

DE LA TRANSMISION

POR Bemisia tabaci



Para cada tratamiento, se sembraron 20 plantas con 2 repeticiones cada uno.

Las semillas fueron puestas en macetas de 1 Lt. de capacidad con suelo desinfectado y se les proporcionó un período de observación de 60 días en espera de síntomas.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSION

##### A) Transmisión Mecánica

Como se observa en el Cuadro 1, la prueba de transmisión mecánica para todos los casos o tratamientos resultó negativa, las plantas no manifestaron síntomas de infección durante los 45 días que duró el período de observación.

##### B) Prueba de la pureza de las colonias de Bemisia tabaci

Las 15 plantas, tratadas con grupos de 50-60 moscas blancas provenientes de las colonias obtenidas en el insectario de la Universidad del Valle de Guatemala, no presentaron ningún síntoma durante los 45 días que duró el período de observación.

Esto indicó que las colonias estaban libres de virus y que podían ser utilizadas para transmitir el virus del algodón en el laboratorio, teniendo la certeza de transmitir únicamente el virus contenido en la fuente de inóculo.

##### C) Prueba de transmisión con el vector Bemisia tabaci

La prueba de transmisión por el vector, la Mosca blanca, B. tabaci, resultó positiva para el algodón, kenaf y frijol, mientras que para el tratamiento de tabaco resultó negativa,

1) Porcentaje de infección. Durante los 45 días que duró el período de observación, de las 30 plantas inoculadas por cada tratamiento, el número de plantas infectadas fué el siguiente: algodón 24 plantas; kenaf 25 plantas; frijol 17 plantas y tabaco 0 plantas infectadas, Cuadro 2,

CUADRO 1NUMERO DE PLANTAS INFECTADAS DURANTE LOS 45 DIAS DE OBSERVACION EN LA  
TRANSMISION MECANICA

Tratamiento	Plantas infectadas vrs. total de plantas	Resultado
Algodón STV-213	0/30 <sup>1</sup>	Negativo
Kenaf G-45	0/30	Negativo
Frijol Pata de Zope.	0/30	Negativo
Tabaco Burley	0/30	Negativo

1/ Numerador corresponde a las plantas infectadas, denominador al total de plantas inoculadas.

CUADRO 2

NUMERO DE PLANTAS INFECTADAS OBTENIDAS DURANTE LOS 45 DIAS  
DE OBSERVACION EN LA TRANSMISION CON BEMISIA TABACI

Tratamiento	Plantas infectadas	Resultado
Algodón STV-213	24/30 <sup>1</sup>	Positivo
Kenaf G-45	25/30	Positivo
Frijol Pata de Zope	17/30	Positivo
Tabaco Burley	0/30	Negativo

1/ Numerador corresponde al total de plantas que presentaron síntomas y denominador al total de plantas inoculadas.



De los resultados positivos, se obtuvieron los porcentajes acumulados para cada uno de los tratamientos durante los 45 días del período de observación. Los porcentajes máximos acumulados post-inoculación fueron, para el algodón 80% a los 34 días, kenaf 83.33% de infección a los 21 días, para frijol 56% de infección a los 28 días, Cuadros 3, 4 y 5.

## 2. Descripción de los síntomas observados

a. Algodón La primera manifestación de la enfermedad se observó en la segunda hoja verdadera a los 20 días post-inoculación, se inició con un mosaico tenue y distribuido parcialmente en la hoja.

Posteriormente en las siguientes hojas que la planta desarrollaba, el mosaico se manifestó más intenso y con una distribución total en toda la hoja como también una disminución en el tamaño.

El ampollamiento o encrespamiento de las hojas, se manifestó para algunas plantas a partir de la tercera hoja y para otros casos, en forma irregular.

Los síntomas de ampollamiento o encrespamiento no presentaron un patrón regular de manifestación, como lo presentó el mosaico y la disminución del tamaño de la hoja.

b. Kenaf El kenaf manifestó un mosaico violento, intenso en toda la hoja. Esta manifestación, en algunos casos, se dió en lugar donde fué hecha la inoculación o sea en la primera hoja verdadera y en otros casos en la segunda hoja.

Los síntomas de mosaico intenso se siguieron manifestando durante todo el período de observación a lo largo del crecimiento de la planta.

CUADRO 3. Porcentajes acumulados de plantas infectadas de algodón CSTV-213 durante los 45 días de observación en la transmisión con Bemisia tabaci

Días Post-Inoculación	Plantas con Síntomas	Porcentaje Acumulado
1-19	0	0
20	2	6.6
26	8	33.33
27	1	36.66
28	2	43.33
29	2	50.00
30	2	56.66
31	3	66.66
33	3	76.66
34	1	80.00
Total de plantas infectadas	24	80.00%

CUADRO 4. Porcentajes acumulados de plantas infectadas de kenaf G-45, durante los 45 días de observación en la transmisión con Bemisia tabaci

Días Post-Inoculación	Plantas con Síntomas	Porcentaje Acumulado
0-10	0	0
11	3	10
12	2	16.66
13	3	26.66
14	2	33.33
15	4	46.66
16	2	53.33
17	1	56.66
18	2	63.33
19	1	66.66
20	1	70.00
21	4	83.33
Total de plantas infectadas	25	83.33%

CUADRO 5. Porcentajes acumulados de plantas infectadas de frijol Pata de Zope, durante los 45 días de observación en la transmisión de Bemisia tabaci

Días Post-Inoculación	Plantas con Síntomas	Porcentaje Acumulados
0-19	0	0
10	8	26.60
22	2	33.30
23	2	40.00
24	3	50.00
26	1	53.30
28	1	56.60
Total de plantas infectadas	17	56.60%

Un aspecto importante es el hecho de que las plantas de kenaf, que presentaban el mosaico, en ningún momento durante el período de observación presentaron síntomas de ampollamiento encrespamiento.

c. Frijol. Estas plantas se inocularon en el primer par de hojas verdaderas, en las cuales aparecieron manchas cloróticas angulares distribuidas irregularmente en las hojas.

Durante el período de observación, las manchas cloróticas angulares fueron cambiando de color hasta quedar una mancha angular de color blanco-gris seca.

En el segundo par de hojas, aparecieron las mismas manchas cloróticas angulares, pero en menor número, en estas hojas apareció un ampollamiento intenso provocando la deformación total de la hoja y en algunos casos un mosaico tenue.

El tercer par de hojas no manifestó ningún síntoma y la planta continuó con un aparente normal desarrollo.

d. Prueba de transmisión por semilla. Esta prueba en todos los casos resultó negativa, las plantas no presentaron ningún síntoma durante el período de observación.

## V. CONCLUSIONES

### A. Transmisión Mecánica

Como muestran los resultados del presente trabajo, la enfermedad conocida en Guatemala como la "Virosis del Algodón", no se pudo transmitir a las plantas tratadas por medio de un sustrato neutro como lo fué el buffer de fosfatos monobásico y diabásico 0.2 M. y pH 7.

La transmisión de la "Virosis del Algodón" por medio de un método que implicará hacer una lesión a plantas sanas y en esa lesión introducir el agente causal de la enfermedad; no fué posible en el presente experimento.

### B. Transmisión por semilla

Se descarta la posibilidad en este estudio, de que la enfermedad "Virosis del Algodón", pueda permanecer y ser transmitida a la progenie, por medio de su semilla.

Este resultado concuerda con los resultados obtenidos en la "Virosis del Algodón" en El Salvador, en experimentos similares (C. Granillo, comunicación personal).

### C. Transmisión por Bemisia tabaci

1. La sintomatología observada en éste estudio, para el caso del algodón variedad STV-213, viene a confirmar la sintomatología con la cual la "Virosis del algodón", se manifiesta en el campo.

Los síntomas de mosaico, arrugamiento, ampollamiento y disminución del tamaño de la hoja fueron evidentes en condiciones de laboratorio

2. Seguidamente, los resultados obtenidos en esta parte del experimento, se puede considerar a las plantas de kenaf (H. cannabinus) variedad G-45 y al frijol (P. vulgaris) variedad Pata de zope, como plantas hospederas del agente causante de la "Virosis del algodón". No solamente como hospederos de B. tabaci como lo reporta la literatura. (2,5).

3. Se confirmó también que la Mosca Blanca B. tabaci, es el vector responsable de transmitir la "Virosis del Algodón".

La B. tabaci, también tiene la capacidad de transmitir la "Virosis del Algodón", no solamente a algodón, sino también a plantas de kenaf y de frijol, aunque no exista mucha similitud, en cuanto a la forma en que se manifiesta la enfermedad entre una planta y otra.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Allen, R.M., H. Tucker, and R.A. Nelson.  
1960. Leaf Crumple Disease of Cotton in Arizona.  
Plant Disease Reporter 44(4):246-250
  
- 2) Anno-Nyako, F.O., H.J. Vetten, D.J. Allen, and G. Thottappilly.  
1983. The relation between Cowpea golden mosaic and its vector.  
Bemisia tabaci.  
Ann. Appl. Biol. 102:319-323
  
- 3) Anzola, D. And R. Lastra  
1985. Whiteflies Population and its impact on the incidence of  
tomato yellow mosaic virus in Venezuela.  
Phytopathol Z. 112:363-366
  
- 4) Azab, A.K., M.M. Megahed and H.D. El-Mirsawi.  
1970. On the range of host-plants of Bemisia tabaci (Genn.)  
Bull. Entomol. Egypt 54:319-326.
  
- 5) Berlinger, M.J. and R. Dahan.  
1982. Control of Bemisia tabaci, The vector of tomato yellow leaf  
curl virus, in glasshose tomatoes.  
Phytoparasitica 10(4):297

- 6) Bird, J., and K. Maramorosch.  
1978. Viruses and virus diseases associated with whiteflies.  
Adv. Virus Res. 22:55-110.
  
- 7) Brown, J.K., and M.R., Nelson.  
1984. Geminate particles associated with cotton leaf crumple  
disease in Arizona.  
Phytopath. 74:987-990.
  
- 8) Brown, J.K. and M.R. Nelson  
1985. Cotton leaf crumple virus, a whitefly-transmitted geminivirus  
of cotton in Arizona.  
Ariz. Agr. Expt. Sta. p-68: 156-157.
  
- 9) Brown, J.K., J.D. Mihail, and M.R. Nelson.  
1985. The effect of cotton leaf crumple on cotton inoculated at dif-  
ferent growth stages.  
Ariz. Agr. Expt. Sta. p-63: 152-155.
  
- 10) Brown, J.K., J.D. Mihail, and M.R. Nelson.  
The effects of cotton leaf crumple virus on cotton inoculated at three  
growth stages to simulated early-mid-, and late season infection.  
Plant Disease.

- 11) Butler, G.D., Jr., J.K. Brown, and T.J. Henneberry.  
1986. The effect of cotton seedling infection by cotton leaf crumple virus and subsequent growth and yield.  
J. Econ. Entomol. 79: 208-211.
- 12) Capoor, S.P. and P.M. Varma  
1950. A new virus disease of Dolichos lablab  
Curr. Sol., 19:248-249.
- 13) Christie, R.G., Ko, N.J., Falk, B.W., Hiebert, E., Lastra, R., Bird, J.,  
K.S.  
1985. Ligh microscopy of geminivirus-induced inclusion bodies.  
Phytopathology. 75:
- 14) Ciba-Geigy.  
1984. Informe de Seminario sobre Mosca blanca en el cultivo del algodón en Guatemala. Guatemala, Guatemala.
- 15) Cohen, S. and F.E. Nitzany.  
1960. A white-fly transmitted virus of cucurbits in Israel.  
Phytopath., I, 44-46.
- 16) Cohen, S., J.E. Duffus, R.C. Larsen, H.Y. Liv, and R.A. Flock.  
1983. Purificación, serology and relationships of squash leaf curl virus a whitefly transmitted geminivirus.  
Phytopathology 73: 1669-1673.

- 17) Cohen, W., V. Melamed-Omadjar, and Hameiri.  
1974. Prevention of the spread of tomato yellow leaf curl virus transmitted by Bemisia tabaci (Gennadius) (Homoptera, Aleyrodidae) in Israel.  
Bull. Entomol. Res. 64:193-197.
- 18) Costa, A.S. and C.W. Bennett  
1950. Whitefly-transmitted mosaic of Euphorbia prunifolia.  
Phytopathology, 40, 226-283.
- 19) Costa, A.S.  
1965. The white-fly transmitted virus disease of beans in Sao Paulo, Brazil.  
Pl. Prot. Bull. FAO 13, 121-130.
- 20) Elsner, O., G. Stern, and E. Luberskaya.  
1983. The effect of honeydew on the quality of cotton lint.  
Phytoparasitica 11:65.
- 21) Elsner, O.  
1982. The quality of cotton lint contaminated by honeydew.  
Phytoparasitica 10(4):295.
- 22) Flock, R.A., and D.E. Mayhew.  
1981. Squash leaf curl, a new disease of cucurbits in California.  
Plant Disease 65:75-76.

- 23) Gameel, O.I.

1972. A new description, distribution and hosts of the cotton whitefly Bemisia tabaci (Gennadius) (Homoptera Aleyrodidae).

Reu. Zool. Bot. Afr. 84 (1-2):50-64.

- 24) Jaramillo, S. and R. Lastra.

Purification and properties of the geminivirus euphorbia mosaic virus.

Instituto Venezolano de Investigaciones científicas. Centro de Microbiología y biología celular, laboratorio de virus de plantas.

- 25) Kurstah, E.

1981. Plant virus infections and comparative diagnosis.

Elsevier/North-Holland. Bromedical Press.

New York.

- 26) Mound, L.A., and S.H. Halsey.

1978. Whitefly of the world, A systemic catalogue of the Aleyrodidae (Homoptera) with host plant and natural enemy data.

British Museum (Natural History), London.

John Willey and Sons.

- 27) Muniyappa, V., and D.V.R. Reddy.

1983. Transmission of cowpea mild mottle virus by Bemisia tabaci in a nonpersistent manner.

Plant Disease 67:391-393.

- 28) Murk Herjee, A.K. and S.P. Raychaudhuri.  
1964. A note on leaf-curl of Malva viscus arboreus, Cav.  
Indian S. Hort, 21. 176-177.
- 29) Naresh, J.S., and Y.L. Nene.  
1980. Host range, host preference for oviposition and development and the dispersal of Bemisia tabaci Gennadius, a vector of several plant viruses.  
Indian J. Agric. Sci. 50 (8): 620-623.
- 30) Perbins, H.H. Jr.  
1983. Effects of whitefly contamination on lint quality of U.S. cottons, pp. 102-103. In J.M. Brow (ed.) Proc. Beltwide Cotton Prod. Res. Conf., San Antonio Tx. 347.
- 31) Probahaber, N., D.L. Coudriet, and D.E. Meyerdirk.  
1985. Insecticide resistance in the sweet potato whitefly. Bemisia tabaci (Homoptera: Aleyrodidae).  
J. Econ. Entomol. 78:748-752.
- 32) Ross, M.A., H. Toker, and R.A. Nelson.  
1960. Leaf crumple disease of cotton in Arizona.  
Plant Disease Reporter. Vol. 44, No. 4
- 33) Russell, L.M.  
1957. Synonyms of Bemisia tabaci (Gennadius) (Homoptera, Aleyrodidae)  
Bull. Brooklyn Entomol. Soc. 52:122-123.

## 34) Rusell, T.E.

1982. Effect of cotton leaf crumple (CLC)

Disease on stub and planted cotton

Ariz. Agr. Exp. Sta. P-56: 43-47.

## 35) Sela, I., I. Assouline, E. Tanne, S. Cohen and S. Marco.

1980. Isolation and characterization of a rod-shaped, whitefly-transmissible, DNA-containing plant virus.

Phytopathology 70:226-228.

## 36) Sheffield, F.M.L.

1957. Virus diseases of sweet potato in East Africa. I. Identification of the viruses and their insect vectors.

Phytopathology. 47: 582-590.

## 37) Tarr, S.A.J.

1954. Virus disease of cotton.

Comonwealth Mycological Institute. University Press Oxford. 55pp.

## 38) Van Sahaick, P.H., D.C. Erwin, and M.J. Garber.

1962. Effects of time symptom expression of the leaf-crumple virus on yield and quality of fiver of cotton.

Crop Science 2: 275-277.

39) Villavicencio, H.

1984. Historial de la Mosca blanca en Guatemala. Informe del Seminario sobre Mosca blanca en el cultivo del algodón en Guatemala.

Ciba-Geigy 7-8.