

Evaluación de *Aphis craccivora* como vector del virus potyvirus (CABMV) en plantas de sésamo (*Sesamum indicum* L.) variedad escoba blanca

Evaluation of *Aphis craccivora* as a vector of potyvirus (CABMV) virus in plants of sesame variety escoba blanca

Natalia de Jesús J. Zelada Cardozo¹ y María Bernarda Ramírez de López^{2*}

¹ Ing. Agr. Egresada de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción. San Lorenzo, Paraguay.

² Ing. Agr. M.Sc., Docente Investigador de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción. San Lorenzo, Paraguay.

*Autor para correspondencia (mramirez@agr.una.py).

Recibido: 30/10/2010; Aceptado: 25/11/2010.

RESUMEN

El trabajo tuvo como objetivo evaluar la capacidad de transmisión del virus potyvirus CABMV (Cowpea aphid borne mosaic virus) por el áfido del poroto, *Aphis craccivora*, como vector en plantas de Sésamo (*Sesamum indicum* L.), previa adquisición del virus del cultivo de poroto (*Vigna unguiculata*). El experimento fue conducido en el invernadero del Campo Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias (FCA) de la Universidad Nacional de Asunción (UNA), ubicado en el Campus Universitario de la ciudad de San Lorenzo. El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con dos tratamientos y 52 repeticiones, donde el tratamiento uno representa plantas de sésamo inoculadas con el virus a través de *Aphis craccivora*, el tratamiento dos es el testigo absoluto. Las variables evaluadas fueron: incidencia del virus (número de plantas con síntomas del virus) en plantas de sésamo, inoculadas a los 28 días después de la emergencia (DDE), y el período de incubación del virus (tiempo de aparición de síntomas virales en días). Fueron realizadas observaciones diarias durante 7 semanas, y los resultados fueron expresados en forma porcentual. Se concluye que *Aphis craccivora*, adquiriendo el virus en plantas de poroto, transmite de manera no persistente el potyvirus (CABMV) en plantas de sésamo, con baja incidencia del virus. Estos resultados fueron confirmados, a través de pruebas biológicas, en plantas indicadoras del virus (*Chenopodium amaranticolor*).

Palabras clave: Cowpea aphid borne mosaic virus (CABMV), *Sesamum indicum* L., *Aphis craccivora*, inoculación, incidencia.

ABSTRACT

The study aimed to evaluate the ability of transmitting the virus potyvirus CABMV (Cowpea aphid borne mosaic virus) by the bean aphid, *Aphis craccivora*, as a vector in plants of Sesame (*Sesamum indicum* L.), after acquiring the virus culture bean (*Vigna unguiculata*). The experiment was conducted in the greenhouse of the Experimental Station of the Facultad de Ciencias Agrarias (FCA) of the Universidad Nacional de Asunción (UNA), located on the campus of San Lorenzo. The experimental design was completely randomized, with two treatments and 52 repetitions, where treatment is a sesame plants inoculated with the virus by *Aphis craccivora*, treatment two is the absolute control. The variables evaluated were: virus incidence (number of plants showing symptoms of the virus) in sesame plants inoculated at 28 days after emergence (DAE), and the virus's incubation period (time of appearance of viral symptoms days). Observations were made daily for 7 weeks, and the results were expressed as a percentage. We conclude that *Aphis craccivora*, acquiring the virus in bean plants, a non-persistent transmitted potyvirus CABMV sesame plants with low incidence of the virus. These results were confirmed by biological tests, the virus indicator plants (*Chenopodium amaranticolor*).

Key words: Cowpea aphid borne mosaic virus (CABMV), *Sesamum indicum* L., *Aphis craccivora*, inoculation, incidence.

INTRODUCCIÓN

El sésamo (*Sesamum indicum* L.) es un rubro introducido en el Paraguay por inmigrantes japoneses, empezó a cultivarse primero en pequeñas parcelas y luego debido a las bondades que presentó fue aumentando progresivamente el área sembrada.

Desde su introducción presentó buena adaptación al clima y gran aceptación entre los pequeños productores debido al buen rendimiento y precio pagado; razón por la cual el volumen de exportación está creciendo año tras año convirtiéndose en un ingreso seguro económicamente.

En el año 2010 se cultivaron en el Paraguay aproximadamente 69.500 ha, con un rendimiento promedio de 575 kg/ha, que dio una producción total de 39.963 toneladas y representa cerca del 1,5 % de la producción mundial (Cubilla, 2010).

En las últimas zafras, el cultivo ha sufrido el ataque de un virus, conocido entre los productores como Ka'are del sésamo, que normalmente ocasiona disminución del rendimiento y en ocasiones pérdida total de la parcela. Resultados de investigaciones realizadas en esta casa de estudios indican que el virus es el conocido como mosaico del poroto Cowpea aphid borne mosaic virus (CABMV) perteneciente a la familia potyviridae (González *et al.* 2010).

Existen varias formas de transmisión de virus en plantas, entre las cuales se encuentra la transmisión por vectores áfidos, la que representa una de las más difíciles de controlar, ya que en muchos casos la introducción del estilete del insecto en la planta, durante solo unos segundos, logra la transmisión.

Debido a lo expuesto, se destaca la importancia de confirmar al áfido del poroto *Aphis craccivora* como uno de los vectores del virus potyvirus Cowpea aphid borne mosaic virus (CABMV) en plantas de sésamo, ya que en fincas de pequeños productores normalmente se encuentran cercanas las parcelas de poroto y sésamo, dado que son cultivos del mismo ciclo, y de este modo aumentar las informaciones de transmisibilidad de este virus.

Entre los test de virología empleados en plantas para comprobación de presencia de virus, se encuentra el de prueba biológica en planta indicadora que resulta una prueba económica, segura y disponible en nuestro medio.

METODOLOGIA

El experimento fue realizado en condiciones de invernadero, localizado en el Campo Experimental de la

Facultad de Ciencias Agrarias (FCA) de la Universidad Nacional de Asunción (UNA), del Campus Universitario de la ciudad de San Lorenzo, cuyas coordenadas geográficas son las siguientes: 25° 21' latitud Sur y 57° 21' longitud Oeste y altitud de 125 metros sobre el nivel del mar.

Para la conducción del experimento fueron utilizadas plantas de sésamo (*S. indicum* L.), plantas de poroto (*Vigna unguiculata*), macetas plásticas negras de 20 x 20 x 60 cm., sustrato (arena y compost), jaula con malla antiáfidos de 30 x 100 cm. Además de planta indicadora de *Chenopodium amaranticolor*.

La cría de ninfas de *A. craccivora* fue realizada en plantas de poroto. Para las plantas se preparó un sustrato con la mezcla de arena gorda y compost en las proporciones 5:3 respectivamente, previo zarandeo por separado de cada componente. En el sustrato mencionado fueron sembradas 5 semillas de la especie poroto en cada maceta, totalizando 6 macetas.

Transcurrido cuatro semanas posterior a la siembra del poroto; se realizó la siembra de sésamo, las semillas fueron tratadas con fungicida y el mismo sustrato utilizado para el poroto fue tratado con agua caliente para evitar la presencia de patógenos. Las semillas fueron sembradas al voleo en 6 macetas, y a los 8 días de germinación se trasplantaron en macetas definitivas que fueron utilizadas en el experimento. Una vez realizada la siembra, las unidades experimentales fueron individualizadas mediante la numeración, colocándose cada tratamiento sobre mesas separadas. Las macetas con plantas de sésamo fueron mantenidas dentro del invernadero.

La cría de ninfas de pulgones tuvo una duración de 10 semanas, se inició a partir de adultos de *A. craccivora* colectados del cultivo de poroto, del campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional de Asunción.

La observación e identificación de la especie de pulgón se realizó con la ayuda de microscopio estereoscopio, y de materiales bibliográficos. En el laboratorio de entomología, las ninfas y adultos fueron colocados sobre plantas de poroto en macetas, dentro de jaulas con mallas antiáfidos, para iniciar la cría y obtener una nueva generación de pulgones libres de virus.

Cuando las plántulas de sésamo alcanzaron los 28 días después de la emergencia (DDE), se procedió a realizar la inoculación de pulgones infectados de la siguiente manera: Fueron colectadas las ninfas de *A. craccivora*, criadas en laboratorio, con un pincel fino humedecido, trasladadas en placas de Petri y sometidas durante 60

minutos al ayuno, previo a la inoculación. Posteriormente, las ninfas fueron llevadas sobre plantas de poroto con síntomas del ataque del Potyvirus CABMV, por un periodo de 30 minutos para la adquisición del virus. Luego retiradas, fueron colocadas 2 ninfas de *A. craccivora* infectadas, durante 30 minutos, sobre cada planta sana de sésamo para la inoculación del virus. Una vez transcurridos los 30 minutos, se retiraron los áfidos de las plantas inoculadas. Las plantas inoculadas fueron mantenidas dentro del invernadero durante 7 semanas entre los meses de octubre a diciembre. Los métodos de cría de pulgones e inoculación del virus, fueron adaptados en base a la metodología descrita por Sreenivasulu *et al.* (1994).

Todas las plantas de sésamo inoculadas con el CABMV, fueron sometidas a la prueba biológica que consiste en la utilización de planta indicadora de síntomas del virus mencionado (*C. amaranticolor*), para descartar la posibilidad de la presencia del virus sin manifestar síntomas debido a condiciones desfavorables, así como también fueron sometidas a prueba biológica 15 plantas al azar del tratamiento y 2 testigo absoluto.

La metodología fue adaptada según Morales (1983) y Carrero (1971), consistente en el espolvoreado de las hojas de plantas a inocular con carborundo, macerado de hojas de plantas de sésamo con síntomas de CABMV en mortero, seguido de la inoculación mecánica con gasa esterilizada en hojas de plantas de *C. amaranticolor*. Luego de 3 semanas se procedió a una nueva inoculación en plantas de *C. amaranticolor*, con el extracto de hojas de sésamo que hayan expresado síntomas, para reconfirmar los datos.

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con 2 tratamientos y 52 repeticiones, totalizándose 104 unidades experimentales. Cada unidad experimental, estuvo conformada por 1 maceta plástica con una planta de sésamo. El tratamiento 1 consistió en la inoculación del potyvirus CABMV, en plantas sanas de sésamo a 28 DDE, por ninfas del áfido *A. craccivora*, y el tratamiento 2 fue el testigo absoluto.

Las variables estudiadas fueron; incidencia: Número de plantas con síntomas del virus CABMV en plántulas inoculadas a los 28 DDE. Periodo de incubación: Tiempo de aparición de síntomas de la infección en días, causada por el virus CABMV en plantas de sésamo inoculadas.

Se realizaron las observaciones diarias, durante 7 semanas a partir de la inoculación. Se evaluó la capacidad de transmisión a plantas sanas de sésamo (*Sesamum indicum* L.) del virus Potyvirus CABMV por el áfido del poroto *A. craccivora* infectados con virus, a través de la incidencia: número de plantas infectadas (obtenido por la evaluación visual de aparición de

síntomas y comparándose estos con las plantas padrones (cuyos síntomas fueron confirmados serológicamente) expresados en porcentaje, también fue evaluado el período de incubación: aparición de síntomas virales en días (obtenidos a través del registro diario de la presencia de síntomas). La Incidencia fue expresada aplicando la siguiente fórmula citada por Fernández Valiela (1969), donde:

$$I = \frac{\text{Plantas u órganos afectados} \times 100}{\text{Plantas u órganos sanos}}$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Incidencia del virus Potyvirus CABMV (Cowpea aphid borne mosaic virus) en plantas de sésamo (*Sesamum indicum* L.) inoculadas con el áfido del poroto *Aphis craccivora*.

La incidencia del virus en plantas de sésamo inoculadas con el áfido, después de 30 minutos de adquisición del virus fue de 6,2 % (**Tabla 1**), similar a los datos obtenidos por Sreenivasulu *et al.* (1994) quienes manifiestan que después de 2 minutos de adquisición del virus, *A. craccivora* lo transmitió a 12,2 % de las plantas de sésamo inoculadas. Los síntomas observados fueron mosaico inicialmente en hojas nuevas, seguido de una infección sistémica en toda la planta (**Figura 1 y 2**), lo que coincide con la sintomatología mencionada por el mismo autor.

A su vez Kitajima *et al.* (2008), mencionan que para la prueba de transmisión por áfidos, *A. craccivora* presentó transmisión eficiente (90% de eficiencia), del virus que causa síntomas de mosaico en frijoles inoculados.

Estos resultados concuerdan con lo afirmado por Pappu *et al.* (1997), Bock y Conti (1974), quienes afirman que *A. craccivora*, es vector de CABMV en plantas de sésamo.

Los resultados obtenidos podrían deberse a lo mencionado por Araujo *et al.* (2009) y Morales (1983), quienes afirman que la incidencia y la severidad están dadas por el hospedero, la fuente de inóculo en el campo y el virus.

Tabla 1. Plantas de sésamo con y sin inoculación, incidencia y porcentaje de síntomas del virus potyvirus CABMV. FCA, UNA. San Lorenzo (PY), 2010.

Tratamientos	Incidencia		Porcentaje (%)	
	CS	SS	CS	SS
T1 Plantas inoculadas	3/52	49/52	6,2	93,8
T2 Plantas sin inocular	0/52	52/52	0	100

CS = Con síntomas.

SS = Sin síntomas



Figura 1. Unidad Experimental N° 47 a los 21 días después de la inoculación presentando mosaico en hojas nuevas de *S.indicum* L. FCA, UNA. San Lorenzo (PY), 2010.



Figura 2. Unidad experimental 47 a los 49 días después de la inoculación presentando invasión sistémica. FCA, UNA. San Lorenzo (PY), 2010.

Periodo de incubación del virus potyvirus CABMV en plantas de sésamo inoculadas con el pulgón *Aphis craccivora*.

El periodo de incubación, en una unidad experimental se presentó a los 16 días después de la inoculación (DDI) y dos unidades experimentales presentaron síntomas 15 DDI (**Tabla 2**), que fue similar a lo expuesto por Morales (1983) para el potyvirus, quien menciona que los síntomas se manifiestan de 8 a 15 DDI en el frijol (*Phaseolus*

vulgaris), teniendo una diferencia de 5 días con la afirmación de Agrios (1996).

Tabla 2. Período de incubación del potyvirus CABMV en plantas de sésamo inoculadas por *A. craccivora*. FCA, UNA. San Lorenzo (PY), 2010.

N° de Unidad experimental	Período de incubación (días)
35	15
44	16
47	15

Pruebas biológicas, en plantas indicadoras de virus, *Chenopodium amaranticolor*

En la prueba biológica, a través de la planta indicadora de virus *C. amaranticolor*, se observaron lesiones locales no sistémicas en hojas (**Figura 3**), este resultado coincide con lo mencionado por Bock y Conti (1974), quienes manifiestan que en esta especie aparecen síntomas con lesiones cloróticas o necróticas de tipo no sistémico, al ser inoculadas con el virus del mosaico del poroto CABMV.



Figura 3. Presencia de lesiones locales en *C. amaranticolor* inoculado con savia de planta de sésamo con síntomas de CABMV. FCA, UNA. San Lorenzo (PY), 2010.

CONCLUSIÓN

En base a los resultados obtenidos y en las condiciones que fue desarrollada esta investigación se concluye que:

- *Aphis craccivora* es uno de los vectores del virus potyvirus Cowpea aphid borne mosaic virus (CABMV).
- *A. craccivora* adquiere el virus CABMV de plantas de

poroto (*V. unguiculata*) y transmite a plantas de sésamo, en condiciones de invernadero.

- El periodo de incubación del potyvirus (CABMV) en plantas de sésamo es de 15 días.

LITERATURA CITADA

- Agrios, G. 1996. Fitopatología. 2^a ed. México: Limusa. 838 p.
- Araújo, R.; Queiroz, A; Andrade, E.; Lima, J. 2009. Biological, serological and molecular comparison between isolates of *Cowpea severe mosaic virus*. Trop. plant. pathol. 34 (4). Brasilia: BR
- Bock, K.; Conti, M. 1974. Cowpea aphid-borne mosaic virus. (en línea). In: association of applied biologists (AAB). N° 134. Consultado 25 oct 2010. Disponible en <http://www.dpvweb.net>
- Carrero, J. 1971. Virosis de los agrios. Madrid, ES. 293 p.
- Cubilla, L. 2010. Estimación de la producción de cultivos de invierno-campaña 2010. (en línea). PY: Capeco-Inbio. Consultado 25 oct 2010. Disponible en http://www.inbio.org.py/uploads/d1estimacion_de_la_pr oduccion_de_cultivos_de_invierno_paraguay_2010.pdf
- Fernández Valiela, M. 1969. Introducción a la Fitopatología. 3^a ed. Buenos Aires, AR: INTA. 1011 p.
- González, L.; Ramírez de López, M.; Kitajima, E. 2010. Avances en la caracterización de una enfermedad virósica que afecta al cultivo de sésamo en el departamento de San Pedro. In: Congreso Nacional de Ciencias Agrarias (1, 2010, San Lorenzo, Py) y Congreso Internacional de la Carne Bovina (4, 2010, San Lorenzo, Py). Libro de Resúmenes. San Lorenzo, Py, FCA. UNA. P.9.
- Kitajima, E. W.; Alcantara de E.B.; Madureira, P.M.; Alfenas-Zerbini, E.P.; Rezende, J.A.M.; Zerbini, E.F.M. 2008. A mosaic of beach bean (*Canavalia rosea*) caused by an isolate of Cowpea aphid borne mosaic virus (CABMV) in Brazil. Arch Virol. 153: 743-747.
- Morales, J. 1983. El mosaico común del frijol: metodología de investigación y técnica de control. Cali, CO: CIAT. 26 p.
- Pappu, H.R.; Pappu, S.S.; Sreenivasulu, P. 1997. Molecular characterization and intervirial homologies of a potyvirus infecting sesame (*Sesamum indicum*) in Georgia. Arch Virol. 142: 1919-1927.
- Sreenivasulu, P.; Demski, J.; Purcifull, D.; Christie, R.; Lovell, G. 1994. A Potyvirus Causing Mosaic Disease of Sesame (*Sesamum indicum*). Plant Dis. 78: 95- 99.