

Centro virtual de investigación de la cadena
agroalimentaria de la papa

CEVIPAPA

Memorias

"I Taller Nacional sobre patógenos del suelo, virus
e insectos plaga diferentes a *Tecia solanivora*"

Bogotá, Colombia

Noviembre 29 - 30 de 2004

COMITÉ ORGANIZADOR

Iván Gutiérrez Restrepo, M. A.
Director Ejecutivo de CEVIPAPA

Héctor J. Villarreal Márquez
Secretario Técnico C. N. P.

COMITÉ ACADÉMICO

Carlos Ñustez. Ing. Agr., M. Sc.
Jorge Evelio Ángel. Biol., Ph. D.
Maria Hersilia Bonilla, Bioq., M. Sc.

AUSPICIO

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL
FONDO NACIONAL DE FOMENTO HORTIFRUTÍCOLA

ORGANIZACIÓN

CEVIPAPA
CONSEJO NACIONAL DE LA PAPA

DISEÑO E IMPRESIÓN

Rasgo & Color Ltda. Tel: 3143540, Bogotá

PRESENTACIÓN

En cumplimiento de su misión de divulgar los resultados de proyectos de investigación, seminarios y talleres entre la comunidad científica que trabaja en la especie papa, el Consejo Nacional de la Papa y CEVIPAPA, Centro de investigación de la cadena, entregan por medio de estas memorias las conclusiones y recomendaciones obtenidas y generadas con la realización del **I Taller nacional sobre virus, patógenos del suelo e insectos plaga diferentes a *Tecia solanivora*** organizado por las dos entidades en Bogotá, durante los días 29 y 30 de noviembre de 2004, con el auspicio del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y el fondo parafiscal de la papa.

Hecha la selección del material presentable en el taller por parte del Comité Académico, se procedió a extender invitación a profesionales con reconocida capacidad de investigación sobre estas áreas temáticas, de quienes se recibió destacada respuesta mediante la remisión de trabajos adelantados en los últimos años, material que sirvió de base para el desarrollo de las jornadas de trabajo y que permitió delinear la ruta que la cadena debe seguir para enfrentar los daños efectos que estas plagas causan en la producción papera del país.

Del juicioso seguimiento que se haga de las indicaciones surgidas en las mesas de trabajo del Taller depende, en buena parte, el desarrollo del aporte de la ciencia a la protección que los agricultores colombianos puedan obtener contra la amenaza que representan estas plagas abundantes en nuestros suelos. Igualmente, el material contenido en estas Memorias se constituye en guía para trabajos más avanzados sobre el tema por parte de estudiantes universitarios y profesionales investigadores interesados en el mismo.

IVÁN GUTIÉRREZ RESTREPO

Director Ejecutivo

CEVIPAPA

.....

Los trabajos presentados hacen parte de las investigaciones realizadas por las entidades participantes en el taller y las ideas y conceptos son responsabilidad exclusiva de sus autores. La Dirección del Centro agradece al doctor Alejandro Silva, Biólogo, por su colaboración en la preparación y revisión del material incluido en esta edición de las Memorias del I Taller Nacional sobre Virus, Patógenos del suelo e Insectos plaga diferentes a *Tecia Solanivora*.

TABLA DE CONTENIDO

Agenda de investigación y transferencia de la cadena agroalimentaria de la papa	1
Patógenos del suelo en el cultivo de la papa	8
OMAR GUERRERO GUERRERO, M. SC.	
Caracterización de la variabilidad molecular de <i>Spongospora subterranea</i> f.sp. <i>subterranea</i> en las principales zonas paperas de Colombia	15
SONIA JARAMILLO, M. SC., HENVER CALDERÍN, LUIS A. HINCAPIÉ, M. SC., LUCÍA AFANADOR, M. SC.	
Identificación molecular de <i>Spongospora subterranea</i> f.sp. <i>subterranea</i> en tubérculos de papa y suelo agrícola mediante marcadores específicos de DNA.....	16
SANDRA GÓMEZ, CHRISTIAN SAAVEDRA, MARÍA A. ORTEGA, JORGE E. ÁNGEL, PH. D.	
Estandarización de la técnica de QC-PCR para el diagnóstico molecular cuantitativo de <i>Spongospora subterranea</i> f.sp. <i>subterranea</i> en suelo agrícola	17
MARÍA A. ORTEGA, JORGE E. ÁNGEL, PH. D.	
Implementación de una metodología diagnóstica para la detección de <i>Ralstonia solanacearum</i> en papa, mediante la comparación de técnicas inmuno-enzimáticas con técnicas moleculares	18
EDISON CHAVARRO, JORGE E. ÁNGEL, PH. D.	
Desarrollo de un sistema de identificación de <i>Rosellinia</i> sp. por PCR basado en datos de secuencia de las regiones rDNA-ITS.....	19
JAVIER A. LÓPEZ QUINTERO, JORGE E. ÁNGEL, PH. D.	
Análisis y caracterización molecular del polimorfismo genético en aislamientos de <i>Rosellinia</i> sp. procedentes de Cundinamarca, Boyacá y Nariño, zonas productoras de papa en el territorio colombiano	20
IVON T. SARMIENTO ROJAS, JORGE E. ÁNGEL, PH. D.	
Caracterización molecular y análisis de la variabilidad genética de aislamientos de <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn, en cultivos de papa de Cundinamarca y Nariño	21
NANCY ARIZA, JORGE E. ÁNGEL, PH. D.	
Evaluación de la actividad biocontroladora de <i>Trichoderma</i> spp. contra <i>Rhizoctonia solani</i> en papa.....	22
CAMILO R. BELTRÁN, MAURICIO A. PARIS, ALBA M. COTES, PH. D., JIMMY ZAPATA	
Algunos aspectos sobre los virus de la papa en Colombia	23
JOSÉ LUIS ZAPATA P., M. SC.	

Validación de la técnica serológica de inmunopresión para detección de diferentes virus que afectan el cultivo de papa	41
M ⁰ NICA GUZMÁN B. PH. D., MARINA CARO M., YENNY GARCÍA S.	
Resistencia de <i>Solanum phureja</i> al virus del amarillamiento de hojas (PYVV). Análisis en 80 genotipos de la colección colombiana de <i>S. phureja</i>.....	42
M ⁰ NICA GUZMÁN B. PH. D., NANCY ARCINIEGAS, M. SC., CARLOS NÚSTEZ, M. SC.	
Adaptación de la técnica de RT-PCR para el diagnóstico del virus del amarillamiento de las venas de la papa. Caracterización preliminar de algunos aislados y validación en campo.....	43
M ⁰ NICA GUZMÁN B. PH. D., NANCY ARCINIEGAS, M. SC., ELIZABETH RUIZ	
Desarrollo de un sistema de detección por RT-PCR de los virus RNA PVX, PVY y PLRV en papa (<i>Solanum tuberosum</i>).....	44
MANUEL MORENO PEREZ, JORGE E. ÁNGEL, PH. D.	
Manejo integrado del gusano blanco de la papa	45
ÁLVARO ALVARADO, M. SC.	
Evaluación de la eficacia del insecticida I.S.Q. Dimilin 25% W.P. (Diflubenzuron) en el control del gusano blanco de la papa (<i>Premnotypes vorax</i>).....	47
JAIME E. SORIANO ARIAS, M. SC.	
Desarrollo de un insecticida microbiano para el control biológico del gusano blanco de la papa <i>Premnotypes vorax</i>.....	49
CARLOS ESPINEL, LISSETE TORRES, MARÍA V. ZULUAGA, LAURA VILLAMIZAR, M. SC., MARTHA G ⁰ MEZ, ALBA M. COTES, PH. D.	
El <i>Naupactus sp.</i> (Tiroteador): una nueva plaga en los agroecosistemas de papa en Colombia.....	50
LUIS ALBERTO PEÑA VILLAMIL, M. SC.	
Lista de participantes.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.

**AGENDA DE INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA DE LA CADENA
AGROALIMENTARIA DE LA PAPA**

PROGRAMA: MANEJO INTEGRADO DE ENFERMEDADES

1. VIRUS QUE AFECTAN EL CULTIVO DE LA PAPA

Proyectos	Objetivos	Justificación	Plazo de ejecución
1.1. Evaluación de pérdidas causadas por virus en el cultivo de la papa	<ul style="list-style-type: none"> - Evaluar las pérdidas causadas por PVX, PVY, PLRV, PVV y PVS en Parda Pastusa, Diacol Capiro y Papa Criolla en tres zonas de producción en Colombia. - Evaluar pérdidas causadas por la combinación de dos o más de los virus PVX, PVY, PLRV, PVV y PVS en Parda Pastusa, Diacol Capiro y Papa Criolla en tres zonas de producción en Colombia: Antioquia, Cundinamarca y Nariño 	<ul style="list-style-type: none"> - A pesar de existir trabajos previos sobre las pérdidas causadas por el PVX, PVY y PLRV y sus interacciones en Parda Pastusa, no se ha establecido el efecto del PVV y el PVS en esta u otra variedad. - Es indispensable conocer la importancia económica de los efectos de los virus en papa en las distintas variedades para establecer prioridades en las actividades orientadas a su manejo y control. 	C
1.2. Evaluación de la resistencia a los virus PVY, PVX, PVS, PLRV y PVV en la Colección Central Colombiana de <i>Solanum sp.</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Evaluar la expresión de resistencia-susceptibilidad de las accesiones de la Colección Central Colombiana de <i>S. phureja</i>, <i>S. andigena</i> y <i>S. tuberosum</i> a los virus mencionados. - Evaluar el efecto en producción de cada uno de estos virus sobre las accesiones evaluadas. - Incluir dentro de la evaluación por lo menos dos aislamientos colombianos caracterizados para cada uno de los virus. - Establecer correlación entre la respuesta de resistencia y variaciones alélicas de genes específicos asociados a la resistencia en papa. 	<ul style="list-style-type: none"> - El potencial de resistencia de la Colección Central Colombiana es inexplorado, con resultados preliminares que demuestran que sí hay materiales promisorios. Las condiciones ambientales de cada región exigen a los países tener su programa de evaluación 	Mp
1.3. Caracterización biológica y molecular de aislamientos colombianos de los virus PVY, PVX, PVS, PLRV, y PVV y de los viroides PSTVD y PMTV.	<ul style="list-style-type: none"> - Caracterizar la severidad de aislamientos virales colombianos mediante plantas indicadoras de variedades de papa - Evaluar secuencias de un gen viral (CP, Rd RP) mediante RT-PCR y secuenciamiento. - Establecer relaciones evolutivas entre aislamientos virales colombianos y los de otros países. 	<ul style="list-style-type: none"> - No hay conocimiento de la similitud entre aislamientos virales colombianos y los de otros países; por lo tanto, su comportamiento en inducción de síntomas no es predecible. 	Mp

P = Permanente, C = Corto plazo, Mp = Mediano plazo, L = Largo plazo

**AGENDA DE INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA DE LA CADENA AGROALIMENTARIA
DE LA PAPA**

PROGRAMA: MANEJO INTEGRADO DE ENFERMEDADES

1. VIRUS QUE AFECTAN EL CULTIVO DE LA PAPA

Proyectos	Objetivos	Justificación	Plazo de ejecución
1.4. Obtención de antisueros para los virus PYVV, PVX, PVY, PVS, PLRV, PMTV.	<ul style="list-style-type: none"> - Aislar el virus y la CP de PYVV - Inocular conejos inmunogénicos. - Obtener antisuero anti PYVV - Aislar el virus y CP de PVX, PYV - Inocular conejos inmunogénicos - Obtener antisuero anti PVX, PYV - Aislar el virus y CP de PLRV - Inocular conejos inmunogénicos - Obtener antisuero anti PLRV - Probar la eficiencia del reconocimiento de cada uno de los antisueros obtenidos con muestras de campo sintomáticas y asintomáticas - Producir para cada uno de los virus un kit de diagnóstico basado en ELISA o inmunopresión. 	En el país no existen anticuerpos contra los virus mencionados y hay que importarlos. Para PYVV no existen en el mundo. Disponer de estos anticuerpos reduce costos para pruebas de diagnóstico de laboratorio y de certificación de ICA.	Mp
1.5. Taller sobre transferencia de resultados de investigación sobre virus en papa.	<ul style="list-style-type: none"> - Dar a conocer a los funcionarios encargados de la certificación de semilla e instituciones relacionadas, las nuevas técnicas de identificación de virus - Generar efecto multiplicador a nivel local y regional de estas metodologías para fortalecer el programa de certificación de semillas a nivel regional - Familiarizar a productores y actores de la cadena de la papa con las nuevas técnicas 	Fortalecer el programa de certificación de semilla.	C

P = Permanente, C = Corto plazo, Mp = Mediano plazo, L = Largo plazo

**AGENDA DE INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA DE LA CADENA AGROALIMENTARIA
DE LA PAPA**

**PROGRAMA: MANEJO INTEGRADO DE ENFERMEDADES
OFERTA TECNOLÓGICA DISPONIBLE PARA TRANSFERIR**

ÁREA: VIROLOGÍA VEGETAL

Productos	Entidad/Investigador	Estrategias de transferencia
1. Técnicas de diagnóstico molecular para detección de virus	ICA	Taller de Transferencia
2. Técnica de diagnóstico molecular para PVV y serológica para diferentes virus	IBUN	Taller de Transferencia

SUGERENCIAS

ÁREA: VIROLOGIA VEGETAL

Para el grupo de fitomejoramiento: unificar la Colección Central Colombiana de Papa. Caracterización molecular y genotípica de la CCC de papa.

**AGENDA DE INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA DE LA CADENA AGROALIMENTARIA
DE LA PAPA**

PROGRAMA: MANEJO INTEGRADO DE ENFERMEDADES

2. MANEJO Y CONTROL DE INSECTOS PLAGA DIFERENTES a *Tecia solanivora*

Proyectos	Objetivos	Justificación	Plazo de ejecución
2.1. Reconocimiento, identificación y evaluación de daños y estudios bioecológicos de las especies de chisa en el cultivo de la papa.	<ul style="list-style-type: none"> - Realizar un inventario de las especies de chisa y determinar cuáles son plaga y cuáles no. - Reconocer y evaluar entomopatógenos de especies de chisas en el cultivo de la papa. Estudiar la biología de las especies plaga. Fluctuación poblacional. 	<ul style="list-style-type: none"> - Las chisas son una plaga clave en todo el país. - En área, el cultivo puede verse afectado hasta en un 60%. Se desconoce la identificación de muchas de ellas y su impacto en papa. - Necesidad urgente por parte de los agricultores de insumos para el control con alta eficacia 	L
2.2. Manejo integrado de Gorgojos (gusano blanco de la papa). (transferencia)	<ul style="list-style-type: none"> - Validar regionalmente el uso de control químico en cuanto a época de aplicación. - Identificar y determinar distribución de las especies de tiroteador, la fluctuación de sus poblaciones y sus enemigos naturales - Estudiar biología, hábitos y determinar tecnologías para manejo integrado de tiroteador. 	<ul style="list-style-type: none"> - La oferta tecnológica existente para <i>P. vorax</i> tiene impacto variable. Se requiere determinar épocas oportunas para su manejo. - De tiroteador se desconoce casi todo, pero la plaga tiene gran impacto. 	Mp
2.3. Caracterización a nivel de agricultores de tipos de manejo de insectos plaga en el cultivo de la papa.	<ul style="list-style-type: none"> - Conocer los sistemas (modelos a nivel de agricultor) de manejo de plaga y detectar debilidades y amenazas. - Evaluar el impacto del uso de plaguicidas de síntesis en producto y suelo 	<ul style="list-style-type: none"> - El cultivo de la papa necesita recuperar sostenibilidad ambiental. Apuntar hacia la determinación de BPA. 	C

P = Permanente, C = Corto plazo, Mp = Mediano plazo, L = Largo plazo

**AGENDA DE INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA DE LA CADENA AGROALIMENTARIA
DE LA PAPA**

**PROGRAMA: MANEJO INTEGRADO DE ENFERMEDADES
OFERTA TECNOLÓGICA DISPONIBLE PARA TRANSFERIR**

ÁREA: MANEJO INTEGRADO DE INSECTOS PLAGA DIFERENTES A *Tecia solanivora*

Productos	Entidad/Investigador	Estrategias de transferencia
Sistema experto en papa	CORPOICA	Investigación participativa. Escuela de Campo de Agricultores
Control Químico	VARIAS	Investigación participativa. Escuela de Campo de Agricultores
Prácticas M.I.P	VARIAS	Investigación participativa. Escuela de Campo de Agricultores
Aislamientos nativos de <i>B. bassiana</i>	Universidad de Nariño/Carlos Betancourt, Luis Alberto Peña	Investigación participativa. Escuela de Campo de Agricultores
Desarrollo tecnológico de plaguicidas	CORPOICA	Adaptación en campo a través de experimentación por investigadores

SUGERENCIAS

ÁREA: MANEJO INTEGRADO DE INSECTOS PLAGA DIFERENTES A *Tecia solanivora*

Se consideró que no es indicado señalar temas que no deban continuar. Se propone que la asignación de recursos sea hacia los grupos ya consolidados en temas específicos y que se dé prioridad al trabajo interinstitucional e interdisciplinario.

**AGENDA DE INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA DE LA CADENA AGROALIMENTARIA
DE LA PAPA**

PROGRAMA: MANEJO INTEGRADO DE ENFERMEDADES

3. PATÓGENOS DE LA PAPA PRESENTES EN EL SUELO

Proyectos	Objetivos	Justificación	Plazo de ejecución
2.1. Estudio epidemiológico de <i>Spongospora subterranea</i> y <i>Rhizoctonia solani</i> en las principales zonas productoras y con las principales variedades de papa.	<ul style="list-style-type: none"> - Efecto de la cantidad de inóculo en suelo y en semilla sobre el rendimiento y calidad. - Determinar el efecto de factores ambientales en la capacidad de daño del patógeno: tipo de suelo, humedad y temperatura - Determinar el ciclo de la enfermedad versus fenología de la planta 	<ul style="list-style-type: none"> - Desconocimiento del efecto de la cantidad de inóculo y condiciones ambientales sobre la severidad de la enfermedad en cultivos de papa 	Mp
2.2. Manejo Integrado de patógenos de la papa presentes en el suelo (<i>Spongospora subterranea</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Rosellinia sp.</i>).	<ul style="list-style-type: none"> - Búsqueda de resistencia en plantas. - Reconocimiento y evaluación de agentes de control biológico para sarna polvosa - Manejo biológico de <i>R. solani</i> bajo condiciones de almacenamiento y campo mediante el uso de <i>T. koningi</i> - Efecto de enmiendas químicas y físicas sobre la severidad de sarna polvosa 	<ul style="list-style-type: none"> - El control químico no ha sido eficiente y no hay validación sobre otros sistemas de control. - Impacto económico de las enfermedades sobre el sector productivo. - Inhabilitación de lotes por fuente de inóculo. 	P

P = Permanente, C = Corto plazo, Mp = Mediano plazo, L = Largo plazo

AGENDA DE INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA DE LA CADENA AGROALIMENTARIA
DE LA PAPA

PROGRAMA: MANEJO INTEGRADO DE ENFERMEDADES
OFERTA TECNOLÓGICA DISPONIBLE PARA TRANSFERIR

ÁREA: PATÓGENOS DEL SUELO

Productos	Entidad/Investigador	Estrategias de transferencia
Servicio de detección de Roña, <i>Rhizoctonia sp.</i> , <i>Rosellinia sp.</i> y <i>Ralstonia sp.</i>	ICA	Cartillas divulgativas, charlas, información por Internet. Portafolio de servicios.
<i>Trichoderma sp.</i>	CORPOICA	Investigación participativa con agricultores. Escuelas de Campo de Agricultores.

TEMAS DE INVESTIGACIÓN QUE NO DEBEN CONTINUAR POR NO APORTAR A LA
SOLUCIÓN PRÁCTICA
DEL PROBLEMA O POR LA EXISTENCIA DE ALTERNATIVAS MÁS VIABLES

ÁREA: PATÓGENOS DEL SUELO

Caracterización molecular para detección de <i>Spongopora subterranea</i> , <i>Rosellinia sp.</i> , <i>Rhizoctonia sp.</i> y <i>Ralstonia solanacearum</i> .	Ya se suministra ese servicio por parte del ICA. Resolución 004/04
--	--

PATÓ GENOS DEL SUELO QUE AFECTAN EL CULTIVO DE LA PAPA

Patógenos del suelo en el cultivo de la papa

Omar Guerrero¹

Resumen

El cultivo de papa es atacado por una gran diversidad de patógenos habitantes del suelo ocasionando enfermedades de importancia económica, entre las cuales cabe mencionar la "sama polvosa" o "roña", causada por el protozoario *Spongospora subterranea*. Investigaciones realizadas han mostrado que este patógeno tiene un comportamiento diferente en las distintas regiones productoras de papa de Colombia. En el departamento de Nariño, el ataque de *S. subterranea* se intensifica en el sistema de raíces de la planta, produciendo gran cantidad de agallas en las variedades susceptibles como la Parda Pastusa; en cambio, en las regiones productoras de papa de los departamentos de Boyacá y Cundinamarca el ataque se presenta principalmente en los tubérculos.

Rhizoctonia solani, que produce la enfermedad "costra negra", también presenta variabilidad genética, pero se debe investigar su variabilidad patogénica. *Verticillium albo-atrum* ("marchitez temprana") es un hongo que está en la semilla y el tubérculo, no muestra síntomas en su parte externa. *Rosellinia* sp. ("mortaja blanca") tiene un comportamiento errático en su distribución edáfica que es necesario estudiar. Se debe investigar sobre la variabilidad patogénica de los anteriores microorganismos, unido a los estudios de variabilidad genética que se vienen desarrollando. Lo anterior con el fin de entender el comportamiento variable que presentan estas enfermedades en las distintas regiones productoras de Colombia.

En las zonas productoras de papa del país existen tres especies bacterianas: *Ralstonia solanacearum* ("marchitez bacterial"), *Erwinia carotovora* pv *atroseptica* que causa la "pata negra" de la papa y *Streptomyces scabies* ("sama común"). Estas enfermedades bacterianas no son tan limitantes por cuanto están limitadas a ciertas zonas marginales del cultivo.

Debido a la dificultad que reviste el estudio de los patógenos del suelo, se ha avanzado poco en el conocimiento de estos microorganismos. En condiciones de campo se desconocen los ciclos de *S. subterranea* y de los hongos mencionados, información que permitiría identificar los momentos vulnerables para implementar medidas de control genético, cultural y principalmente biológico, ya que el control químico ha sido completamente inoperante.

¹ I. A. M. Sc. Fitopatología. Facultad de Ingeniería Agroecológica. Corporación Universitaria Minuto de Dios. Bogotá. omaguer@hotmail.com

Introducción

El cultivo de la papa en Colombia se ve seriamente afectado por un buen número de patógenos habitantes naturales del suelo, los cuales son agentes causales de diversos problemas sanitarios. Sin embargo, se deben destacar aquellos que causan enfermedades de importancia económica para los productores, entre las que sobresalen por su incidencia y severidad las siguientes:

Sarna polvosa o Roña

Esta enfermedad es causada por *Spongospora subterranea*; antes clasificada como un hongo, hoy en día se la ubica como un protozoario.

Investigaciones realizadas han mostrado que este patógeno tiene un comportamiento diferente en las distintas regiones productoras de papa de Colombia. En el departamento de Nariño, el ataque de *S. subterranea* se intensifica en el sistema de raíces de la planta, produciendo gran cantidad de agallas en las variedades susceptibles como la Parda Pastusa; en cambio, en las regiones productoras de papa de los departamentos de Boyacá y Cundinamarca el ataque se presenta más en los tubérculos. Esto hace pensar que pueden existir variantes patogénicas de este plasmodiophoride, aunado a condiciones ambientales que se desconocen y que conllevan a este comportamiento.



Se ha observado que en un mismo lote de producción de papa infestado con este patógeno, un cultivo en un semestre puede verse seriamente afectado, reduciendo sus rendimientos hasta en un 50% y al siguiente semestre, por situaciones que se desconocen, otro cultivo de la misma variedad no se ve afectado en forma significativa.

Se desconoce el ciclo de vida del patógeno en condiciones de los campos de producción en Colombia, lo cual permitiría establecer los momentos más vulnerables, como el de liberación de zoosporas, para implementar medidas de control con un enfoque principalmente cultural y biológico. Se está trabajando en el estudio de liberación de zoosporas de *S. subterranea in vitro*, que puede servir como base para hacer estos estudios en condiciones de campo.

Estudios de control químico de esta enfermedad en cultivos de papa en el departamento de Nariño, con aplicaciones de elementos como Calcio y Zinc que recomienda la literatura internacional, no han dado resultados satisfactorios.

Costra negra

El agente causal de esta enfermedad es el hongo *Rhizoctonia solani* que tiene su fase sexual en *Tanatephorus cucumeris*. Está ampliamente distribuido en todas las zonas productoras de papa del país. Este patógeno también presenta diversidad en el comportamiento patogénico. Se han hecho algunas investigaciones para determinar la variabilidad genética del hongo, encontrando esta característica en



aislamientos de suelo proveniente de Nariño y Cundinamarca, pero no se ha investigado si esta variabilidad tiene correspondencia con la variabilidad patogénica, lo cual sería de mucha utilidad para orientar trabajos de fitomejoramiento tendientes a buscar resistencia de las variedades de papa a este importante patógeno.

Por otra parte, en programas de producción de semilla, se ha establecido una escala basada en la presencia de esclerocios en los tubérculos. Se recomienda realizar investigaciones para determinar el umbral de daño económico del cultivo causado por esta enfermedad en diferentes ambientes de producción de las distintas regiones del país y en las variedades de mayor producción y comercialización.

Mortaja blanca

Enfermedad causada por el hongo del suelo *Rosellinia* sp. Está localizada preferentemente en lotes de altura con temperaturas bajas. El ataque y la distribución de este patógeno en el suelo es errático. Debido posiblemente a que el hongo es saprófito facultativo, es más severa su incidencia en áreas del terreno con menor fertilidad y contenido de materia orgánica.

Con el uso de técnicas moleculares se ha determinado que el hongo presenta variabilidad genética en muestras de suelo procedentes de los departamentos de Nariño y Cundinamarca, pero hace falta determinar si esa variabilidad está relacionada con variabilidad patogénica que es lo más importante desde el punto de vista de la enfermedad.

Se han desarrollado algunos trabajos de control químico pero con resultados poco satisfactorios. Aplicaciones de carberdazim han mostrado algún efecto sobre este patógeno pero en terreno, donde no hay mucha cantidad de inóculo. Se debe seguir investigando en el manejo de la enfermedad, orientado hacia el uso de correctivos orgánicos del suelo.



Marchitez temprana

Esta enfermedad es ocasionada por el hongo *Verticillium albo-atrum*. Se caracteriza por un amarillamiento de las plantas y un acortamiento del ciclo vegetativo del cultivo, disminuyendo el tamaño de los tubérculos de papa y en consecuencia, su producción.

Este patógeno se transmite por el tubérculo semilla pero externamente no se puede observar, ya que los tubérculos no muestran ninguna anomalía aparente. Sin embargo, al hacer un corte en la unión con el estolón se observa una necrosis en los haces vasculares y así, en la semilla de papa, De esta



forma, el hongo y la enfermedad se están diseminando por las regiones productoras de papa.

Estudios realizados por el ICA en Nariño mostraron que existe interacción entre el hongo *V. albo-atrum* y el nematodo quiste *Globodera pallida*, principalmente en zonas de minifundio. Es importante realizar este tipo de investigaciones en los demás departamentos productores de papa de Colombia.

Bacteriosis

En cuanto a las bacterias que atacan al cultivo de la papa sobresalen a) *Erwinia carotovora* pv. *atroseptica*, agente causal de la enfermedad denominada "pata negra" o "pierna negra". Esta bacteria se localiza principalmente en zonas de altura superiores a los 2.800 m de altitud con temperaturas bajas, causando pudrición blanda de los tallos, los cuales se tornan de un color azul oscuro o negro; los tubérculos muestran pudrición blanda en su interior que avanza desde la unión con el estolón hacia el centro. Debido posiblemente a que esta enfermedad no es muy limitante en la papa ya que se localiza en zonas altas marginales para el cultivo de papa, no se han desarrollado investigaciones que permitan conocer medidas de control o manejo de la enfermedad.



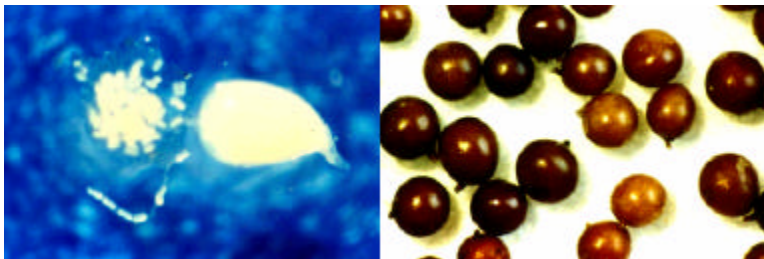
b) *Ralstonia solanacearum*: Agente causal de la "marchitez bacterial" o "dormidera" de la papa. Las hojas de las plantas afectadas pierden su turgencia, se observa una flacidez foliar y luego marchitez. En el tubérculo se observa la presencia del moco bacterial en los haces vasculares, aunque la bacteria puede estar presente en tubérculos que no presentan este signo.



Al contrario de la enfermedad pata negra, la marchitez bacterial se localiza en zonas bajas también marginales del cultivo. No obstante, esta enfermedad es un problema grave en zonas productoras del departamento de Antioquia. Se han realizado estudios tendientes a implementar técnicas de diagnóstico de esta bacteria con el uso de ELISA y PCR en programas de producción de semilla de papa, para detectar la bacteria en tubérculos aparentemente sanos y en suelo con el propósito de evitar su diseminación.

c) *Streptomyces scabies*: agente causal de la enfermedad "sarna común", cuyos síntomas en los tubérculos se pueden confundir con afecciones suaves del plasmodio *Spongospora subteranea*. En consecuencia, es importante implementar técnicas de diagnóstico que permitan diferenciar en forma concluyente la incidencia de estos dos patógenos en los tubérculos destinados principalmente al uso de semilla.

Nemátodos de la papa



En el país se ha registrado la presencia de dos especies de nemátodos en el cultivo de la papa. *Meloidogyne spp.* en algunas zonas productoras del departamento de Antioquia y *Globodera pallida* en Nariño y Cauca. Aunque por investigaciones realizadas por ICA se ha demostrado que el nemátodo quiste de la papa *G. pallida* no reviste ninguna importancia económica para el cultivo de papa, es relevante desarrollar trabajos tendientes al reconocimiento de estos dos nemátodos en las demás zonas productoras de papa en Colombia. Como se dijo anteriormente, es necesario investigar las interacciones que puedan presentarse entre estos nemátodos y hongos habitantes del suelo y que son patógenos de la papa como *Rhizoctonia solani*, *Verticillium albo-atrum* y otros, ya que estudios llevados a cabo en Colombia y otros países han demostrado que se puede dar un sinergismo al interactuar estos dos tipos de microorganismos.

Se debe continuar investigando en los diferentes patógenos de la papa que habitan en los suelos de las zonas productoras de Colombia, enfatizando en el conocimiento de sus ciclos de vida, sus requerimientos para desarrollarse y causar enfermedad; determinar el umbral de daño económico y una evaluación de las pérdidas que ocasionan en las diferentes zonas de producción y finalmente orientar las investigaciones hacia el control de plagas y enfermedades del cultivo de papa, teniendo en cuenta un manejo cultural y biológico.

El control químico de los patógenos del suelo ha sido completamente inoperante, precisamente por las condiciones tan diferentes y especiales que tienen la microfauna y microflora del suelo, lo cual induce a reorientar las investigaciones hacia el control biológico de estos microorganismos.

Bibliografía

Hooker W. S. (Ed). 1980. Compendio de enfermedades de la papa. Centro Internacional de la Papa. Lima. 166 p.

Guerrero, G. O. 1985. Resistencia de variedades y/o clones de papa al nemátodo quiste *Globodera pallida*. En: Informe Anual. Programa de Fitopatología. ICA. Reg5. p. 133-137.

Dees, J.; Barriga, R.; Nieto, P.L. y Guerrero, G.O. 1986. Técnicas nematológicas para trabajos con el nemátodo quiste de la papa. ICA Manual de Asistencia Técnica No. 003. Tibaitatá. 75 p.

Guerrero, G. O. 1990. Mortaja Blanca: Enfermedad de la papa causada por el hongo *Rosellinia sp.* Revista ICA 25(1): 243-249.

- Guerrero, G. O. 2000. La Roña o Sarna Polvosa de la papa en el Departamento de Nariño. Resumen. En: Papas Colombianas. FEDEPAPA 25 años. Bogotá. Colombia. p. 127-129.
- Guerrero, G. O. 2002. La roña o sarna polvosa de la papa causada por el hongo *Spongopora subterranea*. *Revista ICA Informa*. 29(2): 8-11.
- Guerrero, G. O. 2002. Descripción y manejo de las principales enfermedades de la papa. Instituto Colombiano Agropecuario ICA. Subgerencia de Protección y Regulación Agrícola. Seccional Nariño. San Juan de Pasto. Colombia. 32 p.
- Sarmiento, R. I. T.; Ángel D. J. E. y Guerrero, G. O. 2002. Análisis y caracterización molecular de polimorfismo genético en aislamientos de *Rosellinia* sp., procedente de tres zonas productoras de papa. *Revista ICA Informa* 29(3): 8-14.
- Gómez, S. J.; Saavedra, R. C. O.; Ángel D. J. E.; Guerrero, G. O. y Muñoz, V. H. 2003. Detección de *Spongopora subterranea* (Wallroth) Lagerheim f.sp. *subterranea* mediante secuencias específicas de DNA en suelos y tubérculos para semilla de papa. *Revista ICA Informa* 30(2): 15-20.
- Ariza, C. N.; Ángel, D. J. E. y Guerrero, G. O. 2003. Caracterización molecular y análisis polimórfico de aislamientos de *Rhizoctonia solani* Kühn, provenientes de cultivos de papa en Cundinamarca y Nariño. *Revista ICA Informa* 30(3): 12-21.
- Harrison, J. G.; Searce, R. J. y Williams, N. A. 1997. Powdery scab disease of potato - a Review. *Plant Pathology* 46: 1-25.

Caracterización de la variabilidad molecular de *Spongospora subterranea* f.sp. *subterranea* en las principales zonas paperas de Colombia

Sonia Jaramillo¹, Henver Calderón², Luis A. Hincapié³ y Lucía Afanador⁴

Resumen

La sarna polvosa es una enfermedad causada por *Spongospora subterranea*, la cual está afectando los rendimientos y la calidad de la papa en los últimos años, en las diferentes zonas paperas del país. Sobre esta enfermedad hay muy poca investigación nacional o internacional.

En el presente estudio se evaluó la variabilidad molecular *Spongospora subterranea* de 40 aislamientos procedentes de las zonas paperas de Colombia, mediante la técnica PCR-RFLPs, con cebadores y enzimas de restricción específicas para la posterior secuenciación de los fragmentos de las cepas que presentaron diferencia en el bandeado electroforético. El DNA se extrajo a partir de cistosoros obtenidos de pústulas y agallas de tubérculos y raíces, utilizando EDTA-SDS al 3%, y la amplificación de un fragmento específico de DNA ribosomal se realizó con los cebadores específicos para *Spongospora subterranea* Spo8 y Spo9, con una posterior digestión con las enzimas de restricción *TaqI*, *MseI*, *DpnI*, *MspI* y *EcoRV*.

Todas las muestras amplificaron un fragmento de 390 pb previamente reportado por Bullman y Marshall (1998). La digestión con la enzima *TaqI* permitió separar algunas de las cepas del Altiplano Cundiboyacense y el resto del país, para lo cual se clonaron los fragmentos polimórficos de las cepas M10 y M17 y se enviaron a MACROGEN (Corea) para su secuenciación, lo cual no representó ninguna variabilidad molecular que permita separar las poblaciones existentes en Colombia y se estableció hasta un 99% de homología de las secuencias de éste estudio con otras secuencias del patógeno reportadas en el GENBANK para *Spongospora subterranea* (Wallroth) Lagerheim f.sp. *subterranea*.

La presente investigación fue financiada por la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín y el Centro virtual de investigación de la cadena agroalimentaria de la papa (CEVIPAPA).

¹ I. A. M. Sc. en Fisiología. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Laboratorio de Estudios Moleculares, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. sjaramal@unalmed.edu.co

² Biólogo. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Laboratorio de Estudios Moleculares, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. hcalderon@cib.edu.co

³ I. A. M. Sc. en Biotecnología. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Laboratorio de Estudios Moleculares, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. alberthinc@yahoo.com.mx

⁴ Bióloga. M. Sc. En Fitopatología. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Laboratorio de Estudios Moleculares, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. lafanado@unalmed.edu.co

Identificación molecular de *Spongospora subterranea* f.sp. *subterranea* en tubérculos de papa y suelo agrícola mediante marcadores específicos de DNA

Sandra Gómez¹, Christian Saavedra², María A. Ortega³, Jorge E. Angel⁴

Resumen

La sarna polvosa es una de las enfermedades más importantes en el cultivo de papa por el daño que causa a raíces, estolones y tubérculos; su incidencia se ha incrementado debido a la falta de medidas de control efectivas, a la sobrevivencia del agente causal (quistosoros) en suelo, a la carencia de variedades resistentes y a la fácil dispersión y diseminación por medio de semilla. El objeto de este trabajo fue diseñar un sistema de identificación molecular para el agente causal de la sarna polvosa, *Spongospora subterranea* f.sp. *subterranea* en muestras de suelo y material vegetal aplicado a programas de sanidad vegetal, implementando la técnica de PCR con iniciadores específicos para la región ITS (Espaciadores de Transcripción Interna) del DNA ribosomal (rDNA) del patógeno. Se seleccionaron los procedimientos requeridos para el aislamiento de DNA total a partir de suelo y peridermis de papa, se analizaron muestras de suelo infestadas y tubérculos de papa infectados amplificando una región de 391 pb del rDNA del genoma del microorganismo con los iniciadores sps1 y sps2 reportados por Bell *et al.* (1999), determinando la capacidad de la técnica en la detección de quistosoros del protozoario. Todas las muestras de suelo infestado y de tubérculos infectados que fueron analizados mostraron resultados positivos tras ser sometidas a la PCR, mientras que las muestras control no generaron producto de amplificación alguno, por tanto es posible afirmar que el procedimiento aplicado permitió discriminar material contaminado con el agente causal de la sarna polvosa, de material libre del patógeno, siendo a su vez una metodología específica, rápida y sensible.

¹ Estudiante de Biología. Universidad INCCA de Colombia. diagnostico.molecula@ica.gov.co

² Biólogo. Universidad Distrital de Colombia. diagnóstico.molecula@ica.gov.co

³ Ingeniera de Producción Biotecnológica. Universidad Francisco de Paula Santander. andrea_ortega@007mundo.com

⁴ Biólogo. Ph.D. Virología Molecular. Laboratorio Nacional de Análisis Molecular del Instituto Colombiano Agropecuario ICA, Seccional Cundinamarca – Mosquera, Colombia. diagnostico.molecula@ica.gov.co

Estandarización de la técnica de QC-PCR para el diagnóstico molecular cuantitativo de *Spongospora subterranea* f.sp. *subterranea* en suelo agrícola

María A. Ortega¹, Jorge E. Ángel²

Resumen

Conocer el nivel de inóculo del protozoario *Spongospora subterranea* f.sp. *subterranea*, agente causal de la sarna polvosa de la papa presente en suelo, es de vital importancia para el manejo y prevención de la diseminación de esta enfermedad. El objeto de este trabajo fue la generación de una herramienta de diagnóstico molecular para la detección y cuantificación de quistosoros del patógeno en muestras de suelo, cumpliendo con requerimientos de especificidad, sensibilidad y rapidez. El sistema de diagnóstico está basado en la amplificación especie-específica de una región de 391 pb, de los espaciadores de transcripción interna (ITSs) del rDNA del microorganismo, a través de una variación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR): la PCR cuantitativa-competitiva (QC-PCR), coamplificando el DNA blanco con un DNA competidor, estándar interno (1 fg/ μ l), lo que permite estimar la cantidad relativa del patógeno. Las etapas del proyecto incluyeron la selección del procedimiento para la extracción de DNA a partir de suelo, obtención del DNA competidor y suspensiones estándar de DNA a partir de suelo infestado (5, 10, 50, 100, 500, 1000, 5000, 10000 quistosoros en 0,25 gramos de suelo), selección del método de análisis de productos, construcción de una curva de calibración y análisis de muestras de suelo infestado. Se logró la detección de 5 quistosoros del patógeno en 0,25 gramos de suelo, superando el límite de detección de 10000 quistosoros por gramo de suelo con ELISA. Se establecieron 8 niveles de infestación del patógeno. La incorporación de esta metodología al manejo fitosanitario del cultivo de papa y su implementación como medida preventiva tienen como finalidad reducir la dispersión de la enfermedad en los suelos colombianos y su implementación en la declaración de áreas libres del patógeno.

¹ Ingeniera de Producción Biotecnológica. Universidad Francisco de Paula Santander. andrea_ortega@007mundo.com

² Biólogo. Ph. D. Virología Molecular. Laboratorio Nacional de Análisis Molecular del Instituto Colombiano Agropecuario Seccional Cundinamarca – Mosquera, Colombia. diagnostico.molecula@ica.gov.co

Implementación de una metodología diagnóstica para la detección de *Ralstonia solanacearum* en papa, mediante la comparación de técnicas inmuno-enzimáticas con técnicas moleculares

Edisson Chavarro¹ y Jorge E. Ángel²

Resumen

La detección de *Ralstonia solanacearum* representa un problema en el control de la marchitez bacteriana de la papa, debido a la falta de métodos rápidos y precisos para diagnosticar de forma rutinaria al patógeno. La presencia de *R. solanacearum* es un riesgo para la producción, fundamentalmente de los tubérculos destinados a semilla. El objetivo del presente trabajo fue adoptar una metodología inmunoenzimática y/o la verificación de diagnóstico molecular de rutina de alta especificidad y sensibilidad; basada en una técnica estandarizada, confiable y rápida que permita confirmar resultados preliminares para la detección de *R. solanacearum* en tubérculos y plantas de papa. El patógeno se aisló a partir de tubérculos de *Solanum phureja* empleando técnicas de cultivo, pruebas inmunológicas (NCM-ELISA) y una prueba molecular (PCR). Tres métodos fueron estandarizados para la extracción de DNA bacterial, dos protocolos para la obtención de DNA total a partir de cultivos líquidos puros de la bacteria; el tercer protocolo se desarrollo hirviendo el cultivo líquido puro. Estos resultados indicaron que dos de los tres métodos ensayados son los mas adecuados para ser implementados en el diagnóstico molecular de *R. solanacearum*. La prueba inmunoenzimática ELISA-NCM fue positiva para el análisis de 8 submuestras compuestas de 25 tubérculos cada una, que fueron confirmadas por PCR. El estudio de aislamientos a partir de material vegetal, que fueron evaluados por metodología de PCR mediante el uso de iniciadores específicos que reconocen las regiones 16S del rDNA, presenta un producto de amplificación reproducible de 292 pb. Los resultados mostraron que se dispone de una técnica sensible para la detección de *R. solanacearum* que puede ser implementada como un método de control de la bacteria en programas de producción de semilla y certificación de áreas libres del patógeno.

Palabras clave: *Ralstonia solanacearum*, *Pseudomonas solanacearum*, domidera, *Solanum phureja*, PCR, ELISA-NCM, marchitez bacteriana.

¹ Estudiante de Biología. Universidad INCCA de Colombia. bioedicha@hotmail.com

² Biólogo. Ph. D. Virología Molecular. Laboratorio Nacional de Análisis Molecular del Instituto Colombiano Agropecuario ICA, Seccional Cundinamarca – Mosquera, Colombia. diagnostico.molecula@ica.gov.co

Desarrollo de un sistema de identificación de *Rosellinia sp.* por PCR basado en datos de secuencia de las regiones rDNA -ITSs

Javier A. López¹, Jorge E. Ángel²

Resumen

Con el objetivo de desarrollar iniciadores selectivos para detectar *Rosellinia sp.* (agente etiológico de la mortaja blanca de la papa), mediante la técnica de PCR, se secuenciaron las regiones ITS1 e ITS2 (de la sigla en inglés *Internal Transcription Spacer*) de varias cepas procedentes de diferentes zonas productoras de papa en Colombia. Las regiones rDNA-ITSs que están localizadas a lado y lado de la región altamente conservada del gen ribosomal 5,8S, muestran un alto nivel de polimorfismo interespecífico y múltiples copias en el genoma celular, siendo un buen candidato para el diseño de iniciadores especie-específicos, por lo que han sido utilizadas en la identificación de hongos patógenos de especies forestales y de cultivos. También son útiles para análisis filogenéticos.

Los iniciadores fueron construidos a partir de regiones de secuencia conservada para las cepas, utilizando el programa BioEdit Sequence Alignment Editor v.5.0.9 y son complementarios en el extremo 5' al ITS1 y en el extremo 3' al ITS2, dando un producto de 346 pb.

Adicionalmente, se realizó un análisis filogenético entre las cepas de *Rosellinia sp.* y otras especies, tanto del género *Rosellinia* como de la familia Xilariaceae, utilizando el programa MEGA2 v2.1. Se demostró que *Rosellinia sp.* no es un grupo monofilético, lo que es consistente con la variabilidad encontrada en el análisis de RAPDs y con la expansión de la enfermedad en suelos cultivados con papa.

Este trabajo se presenta como una alternativa para el control de algunas enfermedades fúngicas. La aplicación de las metodologías aquí descritas será el punto de partida para el desarrollo de un sistema de prevención de enfermedades, altamente sensible, que permite la identificación de un organismo tanto en suelo como en material vegetal.

¹ Biólogo. Universidad Nacional de Colombia. molecular_javier@hotmail.com

² Biólogo. Ph. D. Virología Molecular. Laboratorio Nacional de Análisis Molecular del Instituto Colombiano Agropecuario ICA, Seccional Cundinamarca – Mosquera, Colombia. diagnostico.molecula@ica.gov.co

Análisis y caracterización molecular del polimorfismo genético en aislamientos de *Rosellinia* sp. procedentes de Cundinamarca, Boyacá y Nariño, zonas productoras de papa en el territorio colombiano

Ivon T. Sarmiento¹, Jorge E. Ángel²

Resumen

Las condiciones medio ambientales y características de suelos ubicados por encima de 2.700 m de altitud favorecen el desarrollo de la enfermedad producida por *Rosellinia* sp., causando severas pérdidas que oscilan entre 10 y 80% en los cultivos afectados, debido a que ocasiona pudrición parcial o total de los tubérculos. Los reportes de literatura indican que no hay información de estudios moleculares de DNA para *Rosellinia* sp. El presente trabajo busca determinar la variabilidad genética del hongo en aislamientos de cultivos de papa. Colombia no cuenta con un banco de cepas de *Rosellinia* sp. que suministre aislamientos del hongo, para realizar análisis del mismo, por lo cual se creará un banco de cepas de este microorganismo. Debido a la poca información bibliográfica, ha sido necesario estandarizar la metodología para su estudio molecular. Una vez aislado e identificado por microscopía, se sometió a crecimiento en medio líquido lo cual se logró después de ensayar diferentes procedimientos; así mismo, se estandarizó una metodología para la extracción de DNA total del hongo, lo cual permitió obtener la amplificación de fragmentos de DNA utilizando los oligonucleótidos universales para amplificar las regiones ITSa e ITSb de *Rosellinia* sp. por la técnica de PCR. Para los estudios de polimorfismo genético de *Rosellinia* sp. por RAPDs, se analizaron 43 oligonucleótidos, de los cuales 22 mostraron un factor polimórfico de bandas entre 13 aislamientos analizados. Con el propósito de crear un banco de cepas de *Rosellinia* sp. se realizaron ensayos de criopreservación del hongo, variando la temperatura y el crioprotector; también se utilizaron dos decanucleótidos para amplificar una secuencia de DNA de *Rosellinia* sp.; después de establecer su especificidad, serán de gran utilidad para el diagnóstico del microorganismo en estudios epidemiológicos y programas de producción de semillas de papa libres de este patógeno. El banco de cepas servirá para el desarrollo de proyectos con este microorganismo. Del estudio de polimorfismo genético de *Rosellinia* sp., se espera poder establecer la variabilidad genética existente entre los aislamientos de cultivos de papa, así como establecer la relación genética entre aislamientos-región, y relación genética entre aislamientos de una misma región, lo cual se puede aplicar en programas de control integrado de esta enfermedad.

¹ Estudiante de Biología. Universidad INCCA de Colombia. diagnostico.molecula@ica.gov.co

² Biólogo. Ph. D. Virología Molecular. Laboratorio Nacional de Análisis Molecular del Instituto Colombiano Agropecuario ICA, Seccional Cundinamarca – Mosquera, Colombia. diagnostico.molecula@ica.gov.co

Caracterización molecular y análisis de la variabilidad genética de aislamientos de *Rhizoctonia solani* Kühn, en cultivos de papa de Cundinamarca y Nariño

Nancy Ariza¹, Jorge E. Angel²

Resumen

El hongo *Rhizoctonia solani* Kühn es causante de grandes pérdidas económicas en el cultivo de papa, puesto que afecta aproximadamente al 20% de la producción total de semilla, siendo necesario desarrollar un método diagnóstico sensible y específico para su detección en suelo, y estudiar su variabilidad genética, debido a la multiplicidad de expresión de síntomas en tubérculos de papa; con este propósito el hongo se analizó mediante la técnica de marcadores moleculares RAPD.

La investigación se realizó en el laboratorio de Diagnóstico Molecular Vegetal de ICA Tibaitatá.

El patógeno se cultivó en medio sólido (PDA) y líquido (papa-zanahoria) y se identificó morfológicamente por microscopía; adicionalmente, cada aislamiento se analizó mediante la técnica PCR usando cuatro secuencias de regiones ITS de rDNA, incluyendo el gen 5.8S. De esta amplificación se obtuvieron productos de DNA de 312, 437 y 735 pb. La variabilidad genética se determinó por la técnica RAPD, para la cual se probaron 43 diferentes decanucleótidos, de los cuales 5 mostraron polimorfismo.

Con cada patrón de bandedo se realizó una matriz de ausencias y presencias de bandas, la cual permite trabajar con datos cualitativos.

Estos resultados indican que el hongo *R. solani* presenta variabilidad genética entre los diferentes aislamientos, lo cual es relevante en programas de fitomejoramiento para medir la resistencia natural de ciertos cultivos, identificar cultivares que son susceptibles a la infección por este patógeno y evaluar resistencia a fungicidas de variantes genéticas del microorganismo.

¹ Estudiante de Biología. Universidad INCCA de Colombia. diagnostico.molecula@ica.gov.co

² Biólogo. Ph. D. Virología Molecular. Laboratorio Nacional de Análisis Molecular del Instituto Colombiano Agropecuario ICA, Seccional Cundinamarca – Mosquera, Colombia. diagnostico.molecula@ica.gov.co

Evaluación de la actividad biocontroladora de *Trichoderma spp.* contra *Rhizoctonia solani* en papa

Camilo R. Beltrán¹, Mauricio A. Paris², Alba M. Cotes³, Jimmy Zapata⁴

Resumen

El hongo fitopatógeno *Rhizoctonia solani* afecta raíces, tallos, tubérculos y hojas de papa, logrando reducir los rendimientos del cultivo hasta en un 50%. En varios cultivos este patógeno ha sido exitosamente controlado con el hongo *Trichoderma spp.* Por esta razón, el objetivo del presente trabajo fue seleccionar una cepa nativa de *Trichoderma sp.* con actividad biocontroladora de este patógeno. Se trabajó con tubérculos provenientes de campo, infestados naturalmente con el patógeno, y con plántulas provenientes de cultivo de tejidos *in vitro*. Para el primer caso se estandarizó una prueba de patogenicidad para *R. solani*, donde se tomaron tubérculos con inóculo natural del patógeno (esclerocios) previamente desinfectados con hipoclorito de sodio y calcio. Posteriormente, se preseleccionaron cepas de *Trichoderma spp.* mediante el montaje de bioensayos en tubérculos de papa de las variedades Capiro, Parda Pastusa y Puracé. Estos consistieron en someter tubérculos con inóculo natural del patógeno a desinfección. Posteriormente, se sumergieron en suspensiones de 10^7 células ml^{-1} de las cepas de *Trichoderma spp.*; los tubérculos fueron colocados en cámaras húmedas donde se realizaron evaluaciones a los 8, 16, y 24 días, con el objeto de determinar la actividad biocontroladora de los antagonistas utilizados. Como resultados relevantes obtenidos, se determinó que *R. solani* se presenta sobre los tubérculos con una incidencia del 100%, y un grado de severidad de 3,5 en promedio. Se comprobó la capacidad de supervivencia de los esclerocios de *R. solani* frente a desinfectantes y persistencia en presencia de biocontroladores. Estos estudios permitieron preseleccionar un aislamiento de *Trichoderma spp.* (Th034), el cual, aunque no logró contrarrestar la acción del patógeno, disminuyó la formación de micelio y esclerocios de *R. solani* sobre los tubérculos y permitió brotes sanos y los tallos y raíces presentaron mayor desarrollo y vigor. Para el caso de plántulas, inicialmente se evaluó la actividad patogénica de dos aislamientos de *R. solani* (Rh005-NAR y Rh006-TIB), inoculando suelo en proporciones del 2%, 5% y 10% (p/p). Se encontró con ambos aislamientos un 100% de incidencia de la enfermedad. Sin embargo, fue seleccionado el aislamiento Rh005-NAR, ya que presentó mayor porcentaje de daño expresado como volcamiento de las plantas. Como prueba preliminar de antagonismo, en recipientes con suelo se enterraron bolsas de muselina que contenían esclerocios de este último aislamiento y se trataron individualmente con suspensiones de los diferentes aislamientos de *Trichoderma spp.* ajustadas a una concentración de 10^7 conidios ml^{-1} , estableciéndose que los aislamientos de *Trichoderma spp.* Th002, Th003, Th007, Th034 y Th181 parasitaron y degradaron más del 50% de los esclerocios. En el ensayo de proyección, al evaluar estos últimos aislamientos en casa de malla, en donde se inoculó suelo con Rh005-NAR (2% p/p), se seleccionaron los aislamientos Th003 y Th034 por presentar diferencias con respecto a las respuestas biológicas dadas y por presentar la mayor actividad biocontroladora expresada como vigor en las plantas y reducción de la severidad del patógeno.

¹ Biólogo. Corpoica. rubenbio@hotmail.com

² I. A. Corpoica. parisbmalej22@yahoo.es

³ Química Farmacéutica. Ph. D. en Fitopatología. Laboratorio de Control Biológico. Corpoica, Tibatata. acotes@corpoica.org.co

⁴ Microbiólogo Agrícola y Veterinario. Corpoica. jzapata@javeriana.edu.co

VIRUS QUE AFECTAN EL CULTIVO DE LA PAPA

Algunos aspectos sobre los virus de la papa en Colombia

José Luis Zapata¹

Resumen

Una enfermedad es toda alteración desfavorable que se produce en el normal funcionamiento de algún organismo. También se puede definir como la interacción entre un hospedante susceptible (papa) y un patógeno virulento (hongo, virus, viroide, bacteria, fitoplasma, nemátodo), influenciados por el medio ambiente que afecta dicha relación.

Los virus son partículas microscópicas, que se multiplican sólo en células vivas y tienen capacidad de afectar su normal funcionamiento. Todos son parásitos obligados y producen enfermedades en todas las formas vivientes, algunos atacan al hombre, otros a los animales, a las plantas y también a otros microorganismos como los hongos, las bacterias y los micoplasmas. En su forma más simple, los virus están constituidos sólo de ácido Ribonucleico (RNA) o sólo ácido Desoxirribonucleico (DNA), de hebra simple o doble y proteína; en la mayoría de los virus de las plantas, hay un solo tipo de proteínas; sin embargo, los virus más grandes pueden tener varias proteínas distintas, cada una con una función diferente.

Los virus que afectan la papa tienen distribución mundial y se presentan en todas las zonas dedicadas al cultivo. Pueden atacar al cultivo en forma individual o combinados con otros virus. En el caso del *Potato Virus X* (PVX), algunas razas provocan necrosis que pueden causar, en algunas variedades, pérdidas de más del 50%, siendo la infección múltiple con otros virus la más perjudicial. El *Potato Virus Y* (PVY) puede disminuir las cosechas hasta en un 80%. Las combinaciones con otros virus como el *Potato Virus A* (PVA) y el PVX provocan enfermedades graves que llegan a veces a destruir el cultivo. El *Potato Yellow Vein Virus* (PVV) en la papa Diacol Capiro ha ocasionado disminución del rendimiento hasta en un 28%, en condiciones del Centro de Investigación La Selva, localizado en Rionegro, Antioquia, Colombia, a una altura de 2.150 m.s.n.m. y una temperatura promedio de 17°C.

Los métodos comúnmente empleados para la detección de los virus de las plantas incluyen la transmisión del virus de una planta enferma a una sana, ya sea por gemación, injerto o fricción con savia de la planta; también se incluye la transmisión por insectos vectores o la cúscura, con su correspondiente expresión de síntomas. La prueba más confiable de la presencia de un virus en una planta se obtiene a través de la purificación del virus, la observación de éste al microscopio electrónico y las pruebas serológicas.

Los virus, después de ingresar a las células del huésped, se replican, trasladan a otras células y luego se acumulan en diversos tejidos de la planta. Durante el proceso, los virus utilizan el metabolismo normal del huésped y causan alteraciones, dando lugar a reacciones del mismo que son llamados comúnmente síntomas. Los síntomas más evidentes de las plantas infectadas con virus son regularmente los que aparecen en el follaje; sin embargo, algunos virus producen síntomas visibles sobre el tallo, frutos y raíces con o sin el desarrollo de síntomas foliares.

En la naturaleza, los virus se pueden transmitir de tres maneras diferentes: por contacto de plantas infectadas con plantas sanas (maquinaria infectada, herramientas, operarios e injerto); por organismos asociados de manera específica, tales como los vectores, que

¹ I. A. M. Sc. Fitopatología. Corpoica Centro de Investigación La Selva. Rionegro, Antioquia. jozapata@epm.net.co

pueden ser insectos, ácaros, nematodos u hongos, y por partes de la planta usadas para la propagación como la semilla sexual y los tubérculos semilla.

Las enfermedades virales no pueden ser controladas por métodos curativos, como en el caso de las enfermedades fungosas; los métodos preventivos de control a ser aplicados dependen mucho del conocimiento de las diferentes enfermedades y de los factores ecológicos que determinan su prevalencia. En papa se conocen dos formas de control preventivo de virus: la producción de semilla libre del patógeno y el desarrollo de variedades resistentes.

Para el proceso de certificación de semilla de papa, en Colombia existe una reglamentación que permite un rango mínimo del porcentaje de plantas infectadas con virus, que va de 0 al 5%, dependiendo de la categoría de la semilla y del virus en cuestión.

Hasta hoy, la forma más empleada para la detección de los virus que afectan la papa es mediante procesos serológicos; sin embargo, paulatinamente se están implementando nuevas técnicas moleculares que son más eficientes y rápidas para la detección, pero requieren de laboratorios muy especializados, con personal altamente calificado, para que dicho proceso sea confiable.

Con respecto a las variedades de papa disponibles en el mercado colombiano, todas son afectadas en menor o mayor grado por los virus prevalentes en cada zona; por otro lado, la Colección Central Colombiana de Papa (CCC) a pesar de contar con más de 800 entradas, ellas no han sido evaluadas para resistencia a virus; sin embargo, se han observado materiales que no muestran síntomas de virus, creciendo con materiales completamente afectados y para los cuales nunca se ha limpiado su semilla. Estos pueden ser materiales promisorios para el programa de mejoramiento genético.

Introducción

La agricultura se inició cuando el hombre dejó de ser nómada y se estableció para producir sus propios alimentos provenientes principalmente de las plantas, pero también se ha registrado que, desde esa época, las plantas han sido afectadas por muchos agentes, produciendo diferentes tipos de daños, entre ellos las enfermedades ocasionadas por patógenos.

Una enfermedad es toda alteración desfavorable que se produce en el normal funcionamiento de algún organismo. También, se define como la interacción entre un hospedante susceptible (papa) y un patógeno virulento (hongo, virus, viroide, bacteria, fitoplasma, nemátodo), influenciados por el medio ambiente, el cual afecta dicha relación. Una aproximación de la distribución de las enfermedades causadas por diferentes agentes patogénicos se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1. Etiología y número de enfermedades que afectan los cultivos.

Cultivo	Origen de la enfermedad				
	Fungosos	Viral	Bacterial	Nemátodo	Otros
Papa	40	30	6	5	40
Otros cultivos importantes (300)	8.000	500	175	500	-

Para el caso de las enfermedades ocasionadas por virus, primero se debe entender que éstos son partículas microscópicas, que se multiplican sólo en células vivas y tienen capacidad de alterar el normal funcionamiento del huésped. Todos son parásitos obligados y producen enfermedades en todas las formas vivientes, algunos atacan al hombre, otros a los animales, a las plantas y también a otros microorganismos como los hongos, bacterias y micoplasmas. En su forma más simple, los virus están constituidos sólo

de ácido Ribonucleico (RNA) o sólo ácido Desoxirribonucleico (DNA), de hebra simple o doble y proteína; en la mayoría de los virus de las plantas, hay un solo tipo de proteínas; sin embargo, los virus más grandes pueden tener varias proteínas distintas, cada una con una función diferente.

Los virus que afectan la papa tienen distribución mundial y se presentan en todas las zonas dedicadas al cultivo. Pueden atacar al cultivo en forma individual o combinados con otros virus. En el caso del *Potato Virus X* (PVX), algunas razas provocan necrosis que pueden causar en algunas variedades, pérdidas de más del 50%, siendo la infección múltiple con otros virus la más perjudicial. El *Potato Virus Y* (PVY), puede disminuir las cosechas hasta en un 80%. Las combinaciones con otros virus como el *Potato Virus A* (PVA) y el PVX provocan enfermedades graves que llegan a veces a destruir el cultivo. El *Potato Yellow Vein Virus* (PVV) en la papa Diacol Capiro, ha ocasionado disminución del rendimiento hasta en un 28%, en condiciones del Centro de Investigación La Selva, localizado en Rionegro, Antioquia, Colombia, a una altitud de 2.150 m y una temperatura promedio de 17 °C.

Características de los virus fitopatógenos

Las partículas virales de la mayoría de las plantas son tan pequeñas que únicamente se pueden observar al microscopio electrónico, su tamaño se expresa en nanómetros (nm); tienen formas y tamaños diferentes de acuerdo al grupo al que pertenecen, pero la forma no varía entre los miembros del mismo grupo. Algunos tienen forma de varilla rígida, de filamentos flexuosos, en otros las partículas son casi esféricas (isométricas) y otros tienen forma baciliforme. Algunos virus tienen dos o más partículas de la misma forma, pero de diferente tamaño, cada una cumple una función determinada.

Los virus fitopatógenos carecen de habilidad para penetrar la cutícula sin heridas, por lo que requieren de un agente para dispersarse de una planta infectada a otra sana o libre de dicho virus; en consecuencia, su diseminación ocurre por diferentes formas que les permita superar esta barrera, como ciertos insectos vectores o cuando un grano de polen infectado se deposita en el óvulo. La partícula viral, al ingresar a la célula, pierde su cubierta proteica e ingresa el ácido nucleico, el cual puede inducir a la célula a sintetizar enzimas denominadas RNA polimerasas o RNA replicasas o tomar otros caminos para replicarse. La translocación o diseminación del virus dentro de la planta se realiza entre las células a través de los plasmodesmos.

El virus, al establecerse en la célula, inicia el proceso de infección y pueden ocurrir las siguientes reacciones:

- El movimiento del virus es restringido; los síntomas generalmente aparecen como lesiones locales sobre las hojas inoculadas.
- Los virus se mueven sistémicamente a otras partes del hospedante.
- No hay síntomas, a pesar de que el virus se encuentre invadiendo toda la planta, debido a que esta puede ser tolerante o los síntomas se encuentran enmascarados por las condiciones ambientales.
- A veces el virus ha penetrado la planta, pero no se ha multiplicado, posiblemente debido a que la planta es altamente resistente o es hipersensible al virus.

Detección

Los métodos comúnmente empleados para la detección de los virus de las plantas, incluyen la transmisión del virus de una planta enferma a una sana, ya sea por gemación,

injerto o fricción con savia de la planta infectada; también se incluye la transmisión por insectos vectores o la Cúscuta, con su correspondiente expresión de síntomas. La prueba más confiable de la presencia de un virus en una planta, se obtiene a través de la purificación del virus, la observación de éste al microscopio electrónico y las pruebas serológicas.

Las partículas virales pueden ser observadas directamente al microscopio electrónico, su cubierta proteica puede ser detectada por serología y su ácido nucleico por medio de pruebas bioquímicas como la electroforesis o hibridación de ácidos nucleicos.

Sintomas

Los virus después de ingresar a las células del huésped, se replican, se trasladan a otras células y luego se acumulan en diversos tejidos de la planta. Durante el proceso, los virus utilizan el metabolismo normal y causan alteraciones del huésped, dando lugar a reacciones del mismo, éstos son los comúnmente llamados síntomas. En ocasiones, éstos pueden ser muy complejos y a veces pueden ser confundidos con otras causas. Por lo tanto, para determinar cuáles síntomas son ocasionados por virus, es necesario eliminar cualquier otra causa de la enfermedad. Los virus tienen la particularidad de inducir síntomas diferentes en diversas plantas hospederas.

El hecho que la mayoría de los nombres de los virus obedezcan al síntoma típico que induce en el huésped principal, destaca la importancia de la sintomatología como criterio para su identificación, pero esta característica como única pauta de identificación puede ocasionar cierta confusión. Los síntomas más evidentes de las plantas infectadas con virus son regularmente los que aparecen en el follaje; sin embargo, algunos virus producen síntomas visibles sobre el tallo, frutos y raíces con o sin el desarrollo de los síntomas foliares.

Por otro lado, la presencia de infecciones virales latentes que aún pueden reducir el rendimiento o la calidad, hace que la sintomatología sea el método menos preciso para el diagnóstico; sin embargo, muchas veces es práctico y conveniente emplearla, como en las últimas etapas de la multiplicación de semilla.

En el caso particular de la papa, es común diferenciar dos tipos de síntomas, según la época en que se presente la infección. Una planta infectada, durante la estación de cultivo (infección primaria), puede desarrollar los síntomas llamados primarios. Los tubérculos de tales plantas pueden portar los virus. Las plantas que emergen de estos tubérculos en la próxima estación de cultivo, pueden mostrar la enfermedad (infección secundaria); estos síntomas se denominan secundarios. En general, los síntomas foliares son muy variables, básicamente son de dos tipos: locales y sistémicos. Los locales se presentan en las partes inoculadas; cuando la infección se presenta en las hojas, los síntomas pueden ser lesiones cloróticas o necróticas de tamaños y tipos diferentes, que dependen del huésped. Los síntomas sistémicos se expresan en las partes no inoculadas y resultan de la translocación y acumulación del virus en la planta.

La infección por virus de las plantas, así como el diagnóstico, la calidad y severidad de los síntomas, son afectados por varios factores de tipo ambiental, genético y/o agronómico, los cuales pueden interactuar entre sí.

Genotipo del huésped

La mayoría de los virus están especializados para infectar sólo algunos géneros o especies de plantas. Según el número de especies que el virus pueda infectar, se dice que el rango de hospederos es estrecho, moderado o amplio. Cuando un mismo género es afectado

por el mismo virus, las especies pueden reaccionar con diferentes síntomas. Por ejemplo, el *Potato Leafroll Virus* (PLRV) infecta *Solanum tuberosum* spp. *tuberosum* e induce síntomas diferentes a los inducidos en *S. tuberosum* spp. *andigena*.

La resistencia a todas las variantes de un virus es una característica controlada por el genotipo del huésped y esta resistencia es usada como un método de control.

Efecto de la temperatura

La temperatura juega un papel importante en la expresión de síntomas ocasionados por virus. La mayoría de los virus tienen requerimientos estrictos de temperatura para la infección, replicación y expresión de síntomas. Ejemplo, los mosaicos ocasionados por PVX a una temperatura por encima de 28°C o por debajo de 12°C frecuentemente no expresan síntomas.

Efecto de la luz

Cuando a las plantas, antes de la inoculación, se les reduce la intensidad de la luz o se someten a períodos de oscuridad, se produce, según se ha encontrado, incremento de la susceptibilidad a varios virus. Las plantas que crecen en condiciones de alta iluminación en el invernadero, usualmente son menos susceptibles que aquellas que crecen en el campo durante días nublados. Sin embargo, los síntomas más severos del PSTVd, se presentan en condiciones de alta iluminación.

Condición nutricional de las plantas

Cuando las plantas se someten a un crecimiento con escaso nivel de nutrientes, expresan síntomas muy similares a los ocasionados por virus y pueden ser confundidos con éstos. Por ejemplo, la deficiencia de elementos menores puede causar síntomas muy similares a los de virus, es así como el amarillamiento intervenal está asociado con deficiencia de magnesio. Por otro lado, el exceso de nutrientes casi siempre tiende a enmascarar los síntomas virales por períodos cortos de tiempo.

Edad de las plantas

Durante el período vegetativo, una planta es susceptible a un virus determinado, pero en diferente grado. Las plantas muy jóvenes o muy viejas son, por lo general, menos susceptibles a la infección. Cuando las plantas se toman más viejas, los virus se diseminan más lentamente de las hojas inoculadas a las otras hojas u otras partes de la planta; este fenómeno se llama "resistencia de planta adulta".

Interacción con otros patógenos

Las interacciones con otros virus pueden ocasionar enfermedades más severas que las causadas por un solo virus, lo cual se conoce como sinergismo, siendo esto muy común con otros tipos de patógenos. Por ejemplo, cuando el PVX y el PVY se presentan juntos, son generalmente destructivos. Pero, también se ha demostrado que plantas de papa infectadas con PVX, PLRV, PVY o PSTVd, son más resistentes a *Phytophthora infestans* y a la vez plantas de papa infectadas con PLRV, usualmente presentan incremento de manchas foliares causadas por *Phoma* sp.

Enmascaramiento de síntomas o latencia

El desarrollo de síntomas depende del huésped, del patógeno y de las condiciones ambientales. Por esto, se encuentran plantas susceptibles que no presentan síntomas. Si esta ausencia es permanente se conoce como latencia o inapariencia permanente. Esto, en ocasiones puede ser contraproducente para programas de mejoramiento, ya que cuando no se hace selección en el lugar adecuado, se pueden seleccionar materiales equivocados.

Alteraciones causadas por virus

Macroscópicas

Desviaciones de color.

Aclareamiento de nervaduras

El color de las venas es más claro que lo normal, es un síntoma fugaz y comúnmente precede a mosaicos.

Mosaico o moteado

Son alternancias de áreas de diferente color, áreas cloróticas en las hojas, dejando porciones de tejido normal a modo de islas o manchas. En el moteado, los bordes de las áreas pálidas están mejor definidas que en los mosaicos. Se pueden presentar mosaicos asociados con las venas: bandeamiento de venas, cuando hay tejido claro u oscuro a los lados de las nervaduras principales. Por último, en el mosaico intervenal, el tejido claro está restringido al área entre las venas principales de la hoja.

Amarillamientos

Cuando hay pérdida de clorofila en forma continua en toda la planta, además, se presenta incremento de carotenos y xantofilas. Se pueden presentar variaciones como las siguientes. Clorosis: el color verde normal, no es uniforme en el follaje; generalmente comienza en la parte apical de la planta. Cálico: Son áreas grandes de color amarillo brillante con bordes irregulares dispersos en todo el follaje. Aucuba: Son manchas pequeñas, a veces redondeadas, distribuidas en forma irregular en las hojas. Modelos en amarillo: Presencia de líneas amarillas con formas definidas, tales como anillos, arcos y líneas sinuosas. Amarillamiento de venas: Coloración amarillo brillante en las venas, lo cual contrasta fuertemente con el color verde de la hoja. Pigmentación anormal. La producción excesiva de algunas sustancias y su translocación irregular: antocianescencia y bronceamiento.

Desviaciones de forma, tamaño y textura

- Hojas pequeñas. El tamaño de las hojas de las plantas enfermas es pequeño cuando se compara con el de plantas sanas.
- Enrollamiento. Es un enrollado severo y hacia arriba de los folíolos que tiene como eje la vena central.
- Encrespamiento. Los márgenes de la hoja muestran apariencia ondulada. Está comúnmente asociado con mosaicos y moteados.
- Deformación. Las hojas pierden su forma normal por elongación o ensanchamiento de la lámina.

- Rugosidad. La superficie de la hoja es irregular, debido a la presencia de llagas o al crecimiento desproporcionado de las venas y láminas.
- Hojas coriáceas. Los folíolos se rajan fácilmente y crujen cuando se aprietan con los dedos.
- Enación. Es el crecimiento exagerado de los tejidos, especialmente a lo largo de las venas principales.
- Desviaciones en el ángulo de inserción de las hojas. Erectez y epinastia.
- Necrosis foliar
- Necrosis apical. Empieza en el ápice de las plantas y en los extremos de las ramas, al final puede afectar toda la planta.
- Necrosis sistémica. Se refiere a estrias necróticas, manchas o anillos distribuidos en el follaje, sin un patrón definido.
- Necrosis de venas. Necrosis sistémica de las venas, se observa principalmente en el envés de las hojas.
- Desviaciones del aspecto general de la planta
- Enanismo. Plantas con este síntoma emergen tardíamente y son más pequeñas que las sanas.
- Detención del crecimiento. Puede ser confundido con enanismo, pero las plantas no muestran deformación. Al parecer casi todas las enfermedades virales ocasionan también cierto grado de disminución en el rendimiento total y a veces el periodo de vida se acorta. Estos efectos pueden ser severos y fáciles de observar o pueden ser muy poco significativos y pasar inadvertidos con facilidad.
- Debilidad. Los tallos son delgados y débiles e incapaces de soportar el follaje.
- Arrosetamiento (bouquet). Las hojas son pequeñas y severamente encrespadas o rugosas, y crecen reunidas en apículos terminales sobre el tallo.
- Escoba de bruja. Proliferación de ramas axilares en los tallos principales. Está asociada con clorosis, reducción del tamaño de las hojas y detención del crecimiento.
- Alteraciones macroscópicas en los tubérculos. Son desviaciones de la forma, textura, tamaño, entre otros. Se pueden mencionar varias alteraciones de esta tipo.
- Tubérculo ahusado. Disminución gradual del diámetro de los tubérculos.
- Elongación. Los tubérculos muestran el mismo ancho en toda su longitud, pero son más alargados de lo normal.
- Tubérculos aéreos. Tubérculos producidos en las axilas de las hojas.
- Sobrecrecimiento. Este síntoma representa abultamientos de las yemas de los tubérculos o desarrollo de otros tubérculos sobre el tubérculo principal.
- Rajaduras. Los tubérculos pueden presentar rajaduras superficiales o profundas.
- Flacidez. Los tubérculos se tornan blandos debido al cese repentino de la acumulación de almidón.

Transmisión de los virus

Los virus que infectan a las plantas no las abandonan espontáneamente. Pueden ser diseminados por el viento, el agua, la savia o en los restos de plantas. En la naturaleza los virus se pueden transmitir de tres maneras diferentes, que se señalan a continuación.

Por contacto de plantas infectadas con plantas sanas. A través de la maquinaria agrícola contaminada, las manos de los operarios o animales. Requiere de partículas muy estables y alta concentración en los tejidos. La transmisión por injerto se considera por contacto.

Por organismos asociados de manera específica. Tales como los vectores que pueden ser insectos, ácaros, nematodos u hongos. Las plantas parásitas como la cúscura no se consideran vectores, porque realizan una transmisión pasiva.

Por partes de la planta usadas para la propagación como la semilla y los tubérculos.

Transmisión por contacto entre plantas

Ocurre cuando las heridas en las plantas infectadas liberan savia que puede contaminar las heridas de las plantas sanas. Mientras más alta sea concentración del virus en la savia, más eficiente es la transmisión, además, la planta receptora debe ser susceptible. Los virus PVX, PVS, APLV, APMV y el PSTVd, se transmiten por contacto. También ocurre transmisión por contacto entre raíces de plantas sanas y enfermas; por rozamiento entre follaje de plantas sanas e infectadas y por contacto entre tubérculos durante el almacenamiento.

Transmisión mecánica

El virus contamina de forma pasiva cualquier agente externo que pueda tener contacto con una planta sana. Las personas pueden diseminar los virus mecánicamente cuando manejan plantas sin tomar precauciones de higiene o accidentalmente, al frotar las plantas con ropa contaminada. Los animales también pueden diseminar los virus de la misma forma, igualmente la maquinaria agrícola es un agente diseminador; el PVX se transmite de esta forma.

Transmisión por injerto

Experimentos han demostrado que el injerto es el único método que permite la transmisión de prácticamente todos los virus y agentes similares, tales como MLO y tiroides. Se requiere cierta compatibilidad entre el patrón y la púa.

Transmisión por vectores

De los 32 órdenes que componen la clase Insecta, ocho poseen vectores de virus. Entre los insectos que transmiten virus de papa, el orden Homoptera, que incluye los áfidos y los saltahojas, es el más importante y abundante. Se considera que unas 193 especies transmiten por lo menos un virus; los crisomélidos, las moscas blancas, las cochinillas y los trips, también pueden transmitir virus.

Transmisión por nemátodos

Las enfermedades virales transmitidas por nematodos, no son numerosas en la papa. El TRV es transmitido por *Trichodorus sp.*, el TRSV por *Xiphinema amaricanum* y el ToBRV por *Longidorus sp.*

Transmisión por hongos

El PMTV y TNV son transmitidos por *Spongospora subterranea* y *Olpidium spp.*, respectivamente.

Transmisión por semilla y polen

Es también conocida como transmisión vertical. En papa es recomendable que los experimentos de transmisión por semilla se realicen en plantas con infección secundaria del virus y no en plantas con infección primaria. Solamente se ha verificado que el viroide PSTVd y el PVT son transmitidos por semilla y polen.

Transmisión por ácaros

Se ha demostrado que nueve virus son transmitidos por ácaros de la familia Eriophyidae, además, de un ácaro de la familia Tetranychidae que transmite el PVY.

Detección de los virus

Una vez se ha establecido que un virus es la causa de una enfermedad, se requiere de una serie de pruebas para su identificación. La gama de hospederos del virus en los que induce síntomas, así como los tipos de síntomas producidos, son útiles para diferenciar un virus de otro. Los estudios de la transmisión de los virus deben indicar si se transmite mecánicamente y a qué hospedantes afecta o si necesita de vectores y cuáles son; cada propiedad es útil para caracterizar el virus. Propiedades como el punto de inactivación térmica, longevidad *in vitro* y punto final de dilución, pueden utilizarse para la identificación de algunos virus. En caso de que en esta etapa se sospeche la identidad de algún virus, se deben aplicar pruebas serológicas y si estas resultan positivas, puede darse una identificación tentativa del virus. La observación del virus al microscopio electrónico y su inoculación en ciertas especies vegetales, con frecuencia es suficiente para identificarlo de manera tentativa. Igualmente, se pueden detectar e incluso identificar los virus de RNA en plantas mediante el aislamiento y análisis por electroforesis de su dsRNA.

Métodos de control

Las enfermedades virales no pueden ser controladas por métodos curativos, como en el caso de las enfermedades fungosas; los métodos preventivos de control a ser aplicados dependen mucho del conocimiento de las diferentes enfermedades y de los factores ecológicos que determinan su prevalencia. En la papa, se conocen dos formas de control preventivo de los virus: la producción de semilla libre del patógeno y el desarrollo de variedades resistentes.

Producción de semilla

La producción comercial exitosa del cultivo de la papa sólo es posible mediante la producción de semilla libre de virus o con una baja proporción de plantas infectadas. Algunas alternativas para mantener la semilla libre son la selección positiva y negativa, el descarte o *rouging*, tipos o categorías de semillas, niveles aceptables o tolerancias de infección viral y erradicación de virus por termoterapia y cultivo de tejidos.

Resistencia genética

En el caso de la papa y los virus, algunas especies y variedades son refractarias a la infección y reducen la multiplicación del virus, otras son tolerantes a la infección, pueden localizar la infección en tejidos necróticos o cloróticos, o son extremadamente susceptibles a los virus. Las principales ventajas de la resistencia genética radican en el hecho de ser heredable, no ser dañina al medio ambiente y tener pocos efectos indeseables en el huésped.

Tipos de resistencia

En papa se ha identificado una serie de reacciones controladas genéticamente frente a una infección con virus. Las principales son: resistencia a la infección, resistencia a la multiplicación, hipersensibilidad, tolerancia y resistencia al vector. La inmunidad o resistencia extrema, aparentemente es el resultado de la combinación de los diferentes mecanismos que actúan en los otros tipos de resistencia.

Tabla 2. Genes de resistencia los virus de la papa.

Especie	Genes	Tipo de resistencia	Virus o viroide
<i>S. tuberosum</i>	Nx tbr (Nx)	H	PVX grupos 1, 3
<i>S. sparsipilum</i>	Nx spl	H	PVX grupos 1, 3
<i>S. tuberosum</i>	Nb tbr	H	PVX grupos 1, 2
<i>S. chacoense</i>	Nx chc	H	PVX todos los grupos
<i>S. acaule</i>	Rx acl	RE	PVX menos HB
<i>S. andigena</i> USDA 41956	Rx adg	RE	PVX menos HB
<i>S. hougasii</i>	RY hou	RE	PVY todas las cepas
<i>S. andigena</i>	RYand	RE	PVY todas las cepas
<i>S. acaule</i> OCH 13823/24	Oligénica	Rm	PLRV
<i>S. brevidens</i>	Poligénica	ri, rm, vr	PLRV
<i>S. tuberosum</i>	Poligénica	RE	PVS
<i>S. andigena</i>	RS and	RE	PVS

Situación de los virus de papa en Colombia

Colombia tiene un Programa Nacional de Certificación de Semilla de Papa, dirigido por el Instituto Colombiano Agropecuario ICA, el cual ha sido reconocido a nivel internacional, por implementar y reglamentar todos los mecanismos fitosanitarios y comerciales que permiten al productor nacional disponer de material de siembra sano y confiable. Una de las principales características del Programa es su constante actualización respecto a la presencia de nuevas enfermedades cuarentenarias y a la normatividad que rige esta reglamentación. En la tabla 3 se presentan los niveles de tolerancia mínima permitida de porcentaje de virus en cada categoría de semilla producida.

Tabla 3. Tolerancias mínimas a enfermedades virales en Colombia.

Virus	Estado	S. elite	Elite	Básica	Registrada	Certificada
PLRV, PVY, PVX, PVS	F	0	0	1	2	5
PVVV	F	0	0	0	1	1

Enfermedades de origen viral más comunes en Colombia

Las características de los principales virus que afectan al cultivo, en condiciones de la zona papera Colombiana, se enuncian a continuación.

Enrollamiento, enrollado de las hojas

Agente Causal: *Potato Leafroll Virus* (PLRV)

El enrollamiento de las hojas de papa ocasionado por virus es una de las enfermedades más importantes del cultivo de la papa. Tiene distribución universal. Se transmite en el campo únicamente por medio de áfidos o pulgones.

Sintomas

La enfermedad produce síntomas primarios, cuando se transmite directamente en el campo, y secundarios al sembrar semilla infectada con el virus.

Los síntomas primarios se manifiestan después que las plantas sanas han sido picadas por pulgones virulíferos provenientes de plantas afectadas por el virus y se hacen evidentes en las hojas jóvenes, que se muestran erectas, enrolladas y pálidas (Figura 1A). En algunas variedades de papa, las hojas jóvenes tienen los bordes rojizos y otras enrollan la base de las hojas.

Los síntomas secundarios se hacen evidentes después que la planta emerge a partir de una papa infectada. Las hojas inferiores se muestran enrolladas (Figura 1B) y las hojas superiores tienen un color más claro. En general, las hojas se muestran rígidas y coriáceas y al tocarlas con la mano producen sonido crocante como de papel.

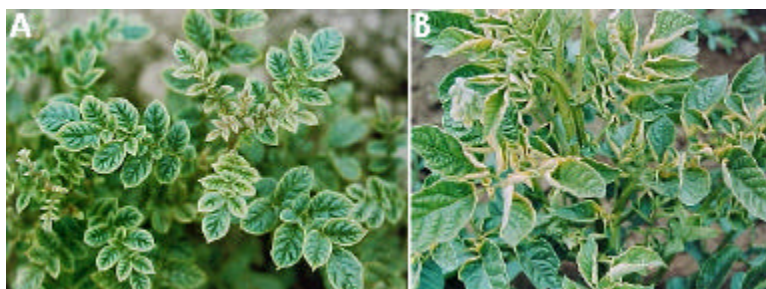


Figura 1. Síntomas de PLRV en plantas de papa. **A.** Planta afectada por PLRV. **B.** Síntomas primarios de PLRV.

Prevención

- Uso de semilla certificada o libre de la enfermedad.
- Uso de variedades resistentes.
- Control de pulgones con insecticidas sistémicos en la bodega o silo rústico y en el campo.
- Tratamiento de papas enfermas con termoterapia.

Mosaico rugoso

Agente causal: *Potato Virus Y* (PVY)

El PVY se considera uno de los virus más importantes de la papa, debido a que se disemina fácilmente y cuando está mezclado con otros virus, puede disminuir el rendimiento del cultivo hasta en un 80%. Es diseminado ampliamente por áfidos e inoculación mecánica. Su corto tiempo de adquisición e inoculación es característico de la transmisión no persistente por *Myzus persicae* u otros áfidos.

Sintomas

La severidad de los síntomas en el follaje de la papa difiere ampliamente en relación con la raza (strain) y la variedad del cultivo, desde síntomas leves hasta necrosis graves y muerte de las plantas infectadas.

Cuando la infección se produce tardíamente, el follaje puede no presentar síntomas, pero los tubérculos de estas plantas pueden llevar consigo la enfermedad.

Los síntomas primarios se manifiestan en forma de necrosis o de amarillamiento de las hojas y a veces muerte temprana. Las plantas con infección secundaria, son enanas, de hojas encarrujadas y moteadas (Figura 2), a veces se produce necrosis en las nervaduras de hojas y en los tallos.



Figura 2. Sintomas de mosaico rugoso

Prevención

- Uso de semilla certificada o libre de la enfermedad.
- Uso de variedades resistentes.
- Eliminación de plantas enfermas.
- Evitar altas poblaciones de pulgones en la bodega y en el campo mediante el control biológico o la aplicación de insecticidas específicos.
- Evitar la manipulación de plantas sanas después de manipular plantas enfermas.

Mosaico Latente o Mosaico Suave

Agente causal: *Potato Virus X* (PVX)

La enfermedad tiene distribución mundial, se disemina fácilmente en el campo por rozamiento entre plantas sanas y enfermas. Puede disminuir los rendimientos hasta en un 15%. Cuando está mezclado con otros virus puede reducir considerablemente el rendimiento.

Sintomas

La enfermedad puede ser del tipo latente, es decir, que no muestra síntomas evidentes en el follaje, con excepción de una ligera reducción del vigor de la planta, puede también inducir mosaico rugoso con enanismo de la planta y reducción del tamaño de las hojas (Figura 4). Durante mucho tiempo se consideró como inofensivo. En combinación con otros virus puede provocar encarrujamiento, rugosidad o necrosis y afectar considerablemente el rendimiento.



Figura 3. Sintomas de PVX

Prevención

- Uso de semilla certificada o libre del virus.
- Evitar el contacto con plantas infectadas con el virus y evitar el contacto de tubérculos afectados con sanos en la bodega o lugar de almacenamiento.
- Uso de variedades resistentes.
- Eliminación de plantas con síntomas.
- Se recomienda lavar con jabón antes de tocar las plantas sanas al manipular plantas enfermas.

Amarillamiento de venas de la papa

Agente causal: *Potato Yellow Vein Virus* (PYVV)

Este virus es transmitido por la mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) (Figura 4A), cuando se alimenta en una planta de papa enferma con amarillamiento y luego se alimenta en una planta sana. Inicialmente la enfermedad estaba circunscrita al Norte del Ecuador y al departamento de Antioquia en Colombia. En la actualidad, se ha reportado su presencia en toda la zona papera colombiana y en otros países como Perú y Venezuela.

Experimentos llevados a cabo en condiciones de campo del Centro de Investigación La Selva de CORPOICA, localizado en Rionegro, Antioquia, Colombia, a una altura de 2.150 m.s.n.m. y una temperatura promedio de 17 °C, determinaron una pérdida en el rendimiento del 28%, en parcelas sembradas con semilla de papa de la variedad Diacol Capiro procedente de plantas sintomáticas.

Sintomas

Los síntomas primarios de la enfermedad se manifiestan en forma de aclareo de las venas secundarias y terciarias de las hojas superiores, luego el color de las venas se torna amarillento y se notan los espacios intervenales de color verde, con frecuencia los síntomas se inician en los bordes de las hojas (Figura 4B). Cuando se siembra semilla infectada por el virus PYVV, los síntomas secundarios, en este caso, comienzan como pequeños puntos amarillos en el limbo de la hoja que posteriormente aumentan en número y tamaño hasta juntarse y se aprecian nuevamente las venas amarillas y los espacios intervenales verdes. Cuando el ataque es muy severo y la variedad muy susceptible, el amarillamiento invade la totalidad de la hoja. El amarillamiento va desde amarillo intenso al principio, hasta claro y opaco al final del cultivo (Figuras 5A y 5B). Parece ser que la enfermedad es favorecida por las épocas de días largos y soleados.

El virus se puede encontrar en forma asintomática en algunas malezas como el Barbasco (*Polygonum segetum* H.B.K.), lengua de vaca (*Rumex obtusifolium* L.), corazón herido (*Polygonum nepalense* Meins.), yerbamora (*Solanum americanum*) y en plantas de tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum*).



Figura 4. A. Mosca blanca alimentándose en papa. B. Sintoma primario del PYVV

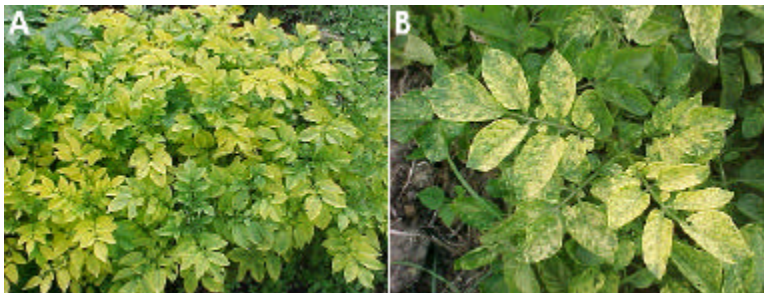


Figura 5. Síntomas del virus PVV. A. PVV amarillo intenso. B. PVV amarillo pálido

Comportamiento de la enfermedad

La enfermedad se disemina en el campo mediante varias formas que se pueden complementar. Una de estas ocurre por el uso de semilla vegetativa de papa (tubérculos, esquejes, brotes, entre otros) infectada con el virus; otra a través de su vector, la mosca blanca de los invernaderos, *T. vaporariorum*, y por último, mediante malezas que sirven como hospedantes o reservorios del virus.

La aparición de nuevas plantas sintomáticas en el campo, es directamente proporcional al número inicial de tubérculos o semillas infectados con el virus y a la población de la mosca blanca. Se ha encontrado que las épocas de sequía, durante el ciclo del cultivo de papa, favorecen el incremento de la población de mosca blanca y, por lo tanto, la diseminación de la enfermedad.

En condiciones de campo, el virus puede permanecer en forma natural en algunas malezas que no muestran síntomas, tales como el corazón herido (*Polygonum nepalense* Meisn.), barbasco (*P. segetum* H.B.K.), lengua de vaca o remasa (*Rumex obtusifolium* L.), ruda amarilla (*Tajetes sp.*) y cortejo o vinca (*Vinca rosea*).

Manejo de la mosca blanca

Una de las alternativas para el manejo de la mosca blanca es el control biológico. Se han registrado algunos enemigos naturales que ayudan al control del insecto. Igualmente, algunos factores abióticos ayudan a regular las poblaciones.

En condiciones de campo, se han encontrado algunos enemigos naturales como los parasitoides *Amitus sp.*, *Encarsia formosa* Gahan, *E. pergandiella*, *Eulophus sp.*, el depredador *Delphastus pusillus* Le Conte y el hongo *Verticillium lecanii* Zimm.

Encarsia formosa Gahan es un endoparasitoide solitario que ataca las ninfas de la mosca blanca. El adulto oviposita dentro de las ninfas, las cuales toman un color negro, siendo esto una señal de la acción del parasitoide. El adulto de la mosca blanca, también es depredado por *E. formosa*.

El coccinélido *D. pusillus* ha sido reportado consumiendo ninfas, pupas y adultos de la mosca blanca, pero no se alimenta de ninfas parasitadas. También se han reportado otros depredadores de ninfas y adultos de la mosca blanca, entre ellos se encuentran *Polybia sp.* (Hymenoptera: Vespidae); *Orius sp.* (Hemiptera: Anthocoridae) y *Crysopa sp.* (Crysopidae).

Verticillium lecanii es un hongo entomopatógeno que ataca muchas especies de insectos de los órdenes Homoptera, Coleoptera y Lepidoptera.

Manejo de la enfermedad

La mejor estrategia de control del amarillamiento de venas de la papa, se fundamenta en la prevención de la enfermedad.

En el campo se pueden presentar varias situaciones.

La primera, ocurre cuando se siembra papa con destino al consumo en fresco o industrial, pero se quiere dejar semilla para otras siembras.

- En este caso, preferiblemente se debe emplear semilla certificada o sana, proveniente de lotes donde no se haya observado la enfermedad.
- Revisar el cultivo semanalmente y cuando aparezcan plantas con síntomas, si son pocas inmediatamente retirarlas del cultivo y destruirlas.
- Controlar las malezas hospederas del virus, tales como el corazón herido (*Polygonum mepalense* Meisn.), barbasco (*P. segetum* H.B.K.), lengua de vaca o remasa (*Rumex obtusifolium* L.), ruda amarilla (*Tajetes sp.*), cortejo o vinca (*Vinca rosea*), batatilla (*Ipomoea trifida* (H.B.K.), *G. cardamine* (*Cardamine flacida*), cenizo (*Gamochaeta americana* Mill), diente de león (*Cacelia sonchifolia* L.), nudillo (*Panicum zizanoides* H.B.K), uchuva (*Physalis peruviana* L.), venadillo (*Erechites valerianifolius*), yantén liso y peludo (*Plantago major* L.), yerbamora (*Solanum amaricanum* L.) y curazao o veranera (*Bougainvillea glabra*), porque éstas mantienen el virus en forma latente.
- Sembrar el cultivo retirado de lotes de frijol, uchuva, tomate de mesa, tomate de árbol, ya que éstos son hospederos principales de la mosca blanca que es el único vector conocido del virus.
- Cuando se presenta una alta cantidad de plantas con síntomas que no se eliminan en cultivos comerciales, se recomienda no dejar semilla de estos lotes y destinar toda la producción para el consumo en fresco o la industria.

La otra situación se produce cuando el cultivo de papa está destinado para la producción de semilla.

- En este caso se debe sembrar semilla de la categoría básica o registrada, por lo tanto libre de la enfermedad.
- Sembrar en lotes nuevos y aislados de cultivos hospederos de la mosca blanca.
- La mosca blanca tiene muchos enemigos naturales, por lo cual, en lo posible, se recomienda no hacer control químico de la plaga para mantener el equilibrio natural.
- Revisar el cultivo al menos una vez por semana. Se debe tener en cuenta que se pueden presentar plantas enfermas que no muestran síntomas del virus.
- Controlar las malezas hospederas del virus (enunciadas anteriormente), con lo cual se reduce la posibilidad de infección.
- Defoliar el cultivo después del llenado de los tubérculos para evadir las moscas blancas y áfidos que pueden transmitir otras enfermedades víricas.

Formas locales para la detección

Hasta hoy, la forma más empleada para la detección de los virus que afectan la papa es mediante procesos serológicos; sin embargo, paulatinamente se están implementando nuevas técnicas moleculares que son más eficientes y rápidas para la detección, pero requieren de laboratorios muy especializados, con personal altamente calificado, para que dicho proceso sea confiable.

Bibliografía

- Agrios, G. N. 1998. Fitopatología. Grupo Noriega Editores. México D. F. 838 p.
- Bercks, R. 1970. Potato Virus X. C. M. I. /A. A. B. Descriptions of plant viruses. Inglaterra. No 4. 4 p.
- Bokx, J. A. de. 1980. Virosis de la papa y de la semilla de papa. Editorial Hemisferio Sur S. A. Buenos Aires. 303 p.
- Centro Internacional de la papa. 1979. Breeding for PLRV, PVX and PVY resistance. Circular VIII (1). Lima. 8 p.
- Centro Internacional de la Papa. 1979. Screening for resistance to PVX and PVY. Circular VII (1). Lima. 4p.
- Delgado-Sánchez, S. 1970. Potato Virus Y. C. M. I. /A. A. B. Descriptions of plant viruses. Peru. 4 p.
- Hooker, W. 1980. Compendio de enfermedades de la papa. Traducido por Teresa Ames de Icochea. Centro Internacional de la Papa. Lima. 166 p.
- Jayasinghe, U. y Salazar, L. F. 1993. Manual de técnicas en virología de plantas. Unidad Técnica de Capacitación 1. Centro Internacional de la Papa. Lima. 119 p.
- Salazar, L. F. 1996. El amarillamiento de venas de la papa. *En: Papas colombianas con el mejor entorno ambiental. 2ª ed. Comunicaciones y Asociados Ltda. Bogotá. 272 p.*
- Salazar, L. F. 1995. Los virus de la papa y su control. Centro Internacional de la Papa. Bogotá. 226 p.
- Wetter, C. 1971. Potato Virus S. C. M. I./A. A. B. Descriptions of plant viruses. No 60. 3 p.
- Zapata, J. L.; Saldarriaga, A. y Salazar, L. F. 2004. El amarillamiento de venas de la papa. CORPOICA. Boletín Técnico 21. Medien, Colombia. 12 p.
- Zapata, J. L. 1991. Combinación de la inmunidad a los virus X e Y de la papa, y resistencia a *P. infestans*, en clones de papa. Tesis para optar al título de Magister Scientiae. Universidad Nacional Agraria, La Molina. Lima. 134 p.

Validación de la técnica serológica de inmunopresión para detección de diferentes virus que afectan el cultivo de papa¹

Mónica Guzmán², Marina Caro³, Yenny García⁴

Resumen

Colombia es el país andino más importante en la producción y consumo de papa (*Solanum spp.*) con 168.432 hectáreas cultivadas. Se cultiva semilla en el Altiplano Cundiboyacense y en Nariño en una extensión aproximada de 140.000 ha. El cultivo presenta un alto índice de enfermedades y es sensible a patógenos virales como PLRV, PVY, PVX Y PVS, responsables del degeneramiento de las variedades de papa por enrollamiento de la hoja, amarillamiento de venas, clorosis, enanismo, reduciendo la producción hasta en un 60%, cuando se presentan combinados. La sintomatología se puede expresar en hojas y/o tubérculos. En este trabajo se estandarizó y validó la prueba cualitativa de inmunopresión (IMI) para la detección de los virus PLRV, PVS, PVY, y PVX en muestras de *S. tuberosum* de campo (Nariño y Cundinamarca) y se analizaron algunos genotipos de la Colección Central Colombiana de *S. phureja* (invernaderos Finca San Jorge, Municipio de Soacha). La técnica IMI se estandarizó en impresiones de tejido vegetal sintomático sobre membranas de nitrocelulosa, bloqueadas con leche descremada, y expuestas a los respectivos anticuerpos y conjugados con la fosfatasa alcalina (protocolo AGDIA) revelando con NBT/BCIP. En 800 muestras de campo se encontró una incidencia del 85,6%, 72%, 38,7% y 91,1% para PVS, PVY, PVX y PLRV, respectivamente. En el banco de germoplasma de *S. phureja* (con colaboración de Nancy Arciniegas) los porcentajes fueron de 20,49%, 18,85%, 5,73% y 6,55% para los mismos virus respectivamente. Estos resultados indican que la infección con estos virus es importante en Nariño y Cundinamarca y que los bancos de germoplasma requieren chequeos rutinarios para seleccionar y descartar materiales infectados. La técnica IMI fue sensible y eficaz para la detección viral, encontrando hasta un 95% de concordancias con ELISA. Se concluye que IMI es sensible para la detección de diferentes virus y se implementa participativamente como una alternativa en la detección serológica de virus, en bancos de germoplasma, en cultivos *in vitro*, en programas de certificación de semilla y para realizar estudios epidemiológicos y de incidencia viral. Los resultados benefician los programas de certificación de semilla para realizar una detección temprana e implementar estrategias de control.

¹ Financiación CEVIPAPA

² Bióloga. Ph. D. Coordinadora del Laboratorio de Virus Vegetales, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia. mmguzmanb@unal.edu.co

³ I. A. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia. mcarom@unal.edu.co

⁴ Bacterióloga. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia.
yenny182@yahoo.com

Resistencia de *Solanum phureja* al Virus del Amarillamiento de Hojas (PYVV). Análisis en 80 genotipos de la colección colombiana de *S. phureja*¹

Mónica Guzmán², Nancy Arciniegas³, Carlos Nústez⁴

Resumen

El Virus del Amarillamiento de las Venas de la Papa (PYVV) es un Crinivirus transmitido por *Trialeurodes vaporariorum*. En Colombia se registra por sintomatología desde 1943, causando pérdidas del 65% en *S. phureja*, con reducción en número y tamaño de tubérculos. En una primera fase se adaptaron algunas técnicas diagnósticas como patrones de RNA de doble banda (dsRNA) observados en geles de agarosa y poliacrilamida con 4 bandas bien definidas. Se observó variabilidad en algunos aislados con diferencias de migración electroforética. También se extrajo el RNA total para la comparación entre accesiones. No se obtuvieron resultados concluyentes con la técnica de hibridación NAPA y otras serologías. En una segunda fase se evaluó la resistencia de *Solanum phureja* (especie diploide, de fácil manejo y con ciclo de producción corto) a través de transmisión por vector *Trialeurodes vaporariorum*. El Clon 1 de *S. phureja* se utilizó como planta receptora de PYVV y sirvió como planta dadora a 30 accesiones (genotipos). Se evaluó la susceptibilidad, tolerancia o la resistencia al PYVV, por síntomas y molecularmente. Los genotipos susceptibles fueron: Clon 1, Col 80, Col 13, Col 21, Col 61 y AM 10, con aparición temprana de síntomas (entre los 21 y 84 ddi), con amarillamiento de venas, enanismo y necrosis en AM10 y Col 13 con concentración de RNA total por encima de 1,0 (DO). Las plantas que no mostraron síntomas y se encontraban infectadas (DO<1,0) se clasificaron como asintomáticas o tolerantes o, por el contrario, si no estaban infectadas, como resistentes (DO<0,1). Los genotipos tolerantes son: Res A, AMPP, Col 107, Col 94, Col 66, Col 55, Col 44, Col 26, Col 7, Col 125.3, Col 112, Col 22, Col 27, AM 20 y col 106 y los potenciales resistentes: Col 118,7, Col 1,10, AM20, Col 112, Col 98, Col 70, Col 60, Col 59, Col 36 y Col 3. Esta evaluación de resistencia en genotipos de la CCC de *S. phureja* permite una primera aproximación para mejorar la producción de papa y puede utilizarse en la evaluación de otras colecciones de *Solanum spp.* tetraploides. Se recomienda adaptar la técnica de RT-PCR y utilizar anticuerpos específicos para el PYVV. A futuro se deben evaluar los polimorfismos de cadena sencilla específicos para el PYVV para determinar la variabilidad de éste virus.

¹ Financiación CEVIPAPA

² Bióloga. Ph. D. Coordinadora del Laboratorio de Virus Vegetales, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia. mmguzmanb@unal.edu.co

³ I. A. M. Sc. en Fitopatología. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia. n_arciniegas@yahoo.com

⁴ I. A. M. Sc. en Genética y Fitomejoramiento. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. cenzutezl@unal.edu.co

Adaptación de la técnica de RT-PCR para el diagnóstico del Virus del Amarillamiento de las Venas de la papa. Caracterización preliminar de algunos aislados y validación en campo¹

Mónica Guzmán B.², Nancy Arciniegas³, Elizabeth Ruiz⁴

Resumen

El Virus del Amarillamiento de Venas de la Papa (PVV), Crinivirus de la familia Closteroviridae, es transmitido por la mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) y causa síntomas de amarillamiento parcial o total de los folíolos con reducción del número y tamaño de los tubérculos. La enfermedad, es un problema importante para los países andinos como Colombia, Perú, Ecuador y Venezuela. Sin embargo, el diagnóstico se ha basado en la expresión de síntomas. El presente trabajo adaptó la técnica de RT-PCR para realizar un rastreo viral en tres departamentos y se utilizaron patrones de RFLPs para estimar la variabilidad viral. Se recolectaron 100 muestras sintomáticas en los departamentos de Cundinamarca, Antioquia y Nariño. La técnica de RT-PCR en un solo tubo permitió confirmar la presencia viral en el 90% de las muestras. Cuarenta productos de PCR purificados se expusieron a las enzimas *EcoR1*, *Pst1* y *Hinf1* para generar patrones de RFLPs. Se encontró restricción con *Hinf1*, con tres patrones diferentes para las muestras de Cundinamarca y Antioquia (A, B y C) y uno solo en Nariño (A). Los resultados moleculares confirman la presencia de PVV en Colombia y demuestran por vez primera la presencia de variantes virales sensibles a la restricción con *Hinf1*. Debido a la alta dispersión del vector natural, los resultados de este trabajo tienen proyección importante y plantean un llamado de alerta para todos los países andinos productores de papa como Perú, Colombia, Ecuador y Venezuela y pone en alerta a otros países americanos. Los resultados deben ser importantes para las agencias nacionales responsables de la certificación de semilla y para la prevención de la dispersión de virus exóticos a partir de semillas de papa.

¹ Financiación: CEVIPAPA

² Bióloga. Ph. D. Coordinadora del Laboratorio de Virus Vegetales, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia. mmguzmanb@unal.edu.co

³ I. A. M. Sc. en Fitopatología. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia. n_arciniegas@yahoo.com

⁴ Química. Universidad Nacional de Colombia. elizaruiz16@hotmail.com

Desarrollo de un sistema de detección por RT-PCR de los virus RNA PVX, PVY y PLRV en papa (*Solanum tuberosum*)

Manuel Moreno¹, Jorge E. Ángel²

Resumen

El control de enfermedades virales de papa se basa principalmente en métodos preventivos, como son la producción de semilla sana y la resistencia genética. Sin embargo, para que cualquiera de ellos pueda ser aplicado efectivamente se requiere de métodos sensibles para la detección de virus.

El objetivo principal de este trabajo fue desarrollar un sistema de diagnóstico molecular por RT-PCR para los virus RNA PVX, PVY y PLRV, que afectan el cultivo de papa, con el fin de fortalecer el papel del ICA en la certificación de semilla libre de virus y el control de las importaciones. Este diagnóstico, por sus características, presenta mayor rapidez, sensibilidad y especificidad que el diagnóstico rutinario ELISA, tomada como prueba de oro (Gold Standard).

Para tal fin se analizó el genoma de los virus (PVX, PVY Y PLRV) indexados en el banco de genes (GenBank). Con ayuda del programa de bioinformática Clustal X versión 1.8, de alineación múltiple, se compararon aislamientos de virus de diferentes puntos geográficos a nivel mundial, encontrando regiones en el genoma que presentan menos variabilidad (conservadas), de las cuales se diseñaron iniciadores (primers) específicos, utilizando los programas Fast PCR y PrimerQuest. Los iniciadores diseñados y aquellos reportados en la literatura fueron implementados en la técnica RT-PCR para diagnosticar muestras fóliales de papa, que resultaron positivas para los virus en estudio por la técnica ELISA en el Laboratorio Nacional de Semilla ICA-LANIP.

Los Primers diseñados mostraron un valor de especificidad y calidad mayor que los reportados por literatura según el análisis con el programa Mega Blast y los programas utilizados para el diseño de los mismos. Tanto con los primers diseñados y los reportados se logró diagnosticar molecularmente los virus PVX, PVY Y PLRV, obteniendo amplificaciones (bandas) correspondiente al tamaño esperado según el fragmento del genoma del virus al cual se dirigían los marcadores moleculares, según lo reveló el analizador de imágenes GeneSnap y GeneTools en el Syngene.

Palabras Claves: papa (*Solanum tuberosum*), Virus PVX, PVY Y PLRV, RT-PCR, Marcadores Moleculares, primers, GenBank, Bioinformática, Clustal X, Fast PCR, PrimersQuest, Mega Blast, GeneSnap y GeneTools.

¹ Ingeniero de producción Biotecnológica. Universidad Francisco de Paula Santander. biotecnologia-col@hotmail.com

² Biólogo. Ph. D. Virología Molecular. Laboratorio Nacional de Análisis Molecular del Instituto Colombiano Agropecuario ICA, Seccional Cundinamarca – Mosquera, Colombia. diagnostico.molecula@ica.gov.co

INSECTOS PLAGA DIFERENTES A *Tecia solanivora* QUE AFECTAN EL CULTIVO DE LA PAPA

Resumen

Este trabajo está enmarcado dentro del proyecto internacional "Implementación de programas de manejo integrado de plagas del cultivo de papa en áreas específicas de la zona andina". En Colombia el proyecto se inició en el municipio de Motavita en diciembre de 1993. El presente informe cubre las actividades realizadas desde diciembre de 1993 hasta julio de 1997. El objetivo principal del proyecto es el establecimiento de una unidad piloto de manejo integrado del gusano blanco de la papa. Para lograrlo se trabaja en cuatro áreas principales: el diagnóstico fitosanitario de la unidad piloto, la validación de prácticas para el manejo integrado del gusano blanco de la papa, la transferencia de estas prácticas a los pequeños agricultores de Motavita y la evaluación de la adopción de la tecnología transferida. La metodología de diagnóstico consistió en una encuesta sobre el conocimiento, daño y prácticas de manejo del gusano blanco, que fue diligenciada por una muestra de la población de la unidad piloto. Este diagnóstico evidenció la falta de conocimiento de la biología y del comportamiento de la plaga, así como el uso unilateral e indiscriminado de insecticidas para su manejo. Las prácticas de manejo integrado de plagas se validaron experimentalmente en fincas de agricultores. En estos estudios se determinó la importancia de las fuentes de infestación, la dinámica poblacional de la plaga y el efecto de algunas prácticas culturales para el manejo de la plaga. Simultáneamente, se transfirieron conocimientos sobre la biología y conocimiento del gusano blanco y prácticas para su manejo integrado. Esta transferencia se realizó mediante días de campo, demostraciones de método, parcelas demostrativas, visitas individuales, giras, charlas grupales y concursos. El conocimiento de la plaga y la adopción de prácticas para su manejo se cuantificó en dos evaluaciones que mostraron un aumento en el conocimiento (del 17% en 1994 al 93% en 1997) y la adopción de algunas de las prácticas de manejo integrado (de 0% en 1994 al 73% en 1997).

¹ I. A. M. Sc. en Desarrollo Rural. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia –UPTC–. aalvarado84@latinmail.com

Evaluación de la eficacia del insecticida I.S.Q. Dimilin 25% W.P. (Diflubenzuron) en el control del gusano blanco de la papa (*Premnotypes vorax*)

Jaime E. Soriano¹

Resumen

El cultivo de papa representa uno de los más importantes renglones de la agricultura nacional; su producción se da bajo un patrón tecnológico basado en la llamada revolución verde (incremento en producción con base en uso intensivo de insumos químicos), aplicado bajo criterios empíricos tradicionalistas (no técnicos), guiados especialmente por la aversión al riesgo. En consecuencia, el manejo de limitantes tecnológicos como el gusano blanco se viene dando desde hace más de 25 años con base en una sola estrategia: el uso indiscriminado de un ingrediente activo denominado carbofurán, el cual es catalogado como categoría I (extremadamente tóxico), sin que hasta el momento esta estrategia fuese puesta en cuestión. Ante tal situación, el departamento técnico de Proficol, siguiendo su política de aportar soluciones tecnológicas amigables con el entorno, se propuso probar la eficacia del I.S.Q. Dimilin 25 en el control del gusano blanco de la papa, y así contribuir concretamente con la tendencia universal hacia una producción limpia.

Mediante un trabajo de más de 5 años, que incluyó el desarrollo de varias tesis y trabajos de campo, se probó, desde laboratorio hasta la obtención del registro de uso, la eficacia del producto diflubenzuron en el control de *Premnotypes vorax*, identificándose en este proceso el efecto del producto sobre la fertilidad y fecundidad de las hembras contaminadas como se presenta en la Figura 1.

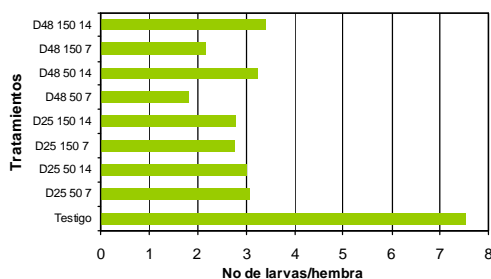


Figura 1. Número promedio de larvas eclosionadas/hembra de *P. vorax*

En campo se estableció el control sobre el daño causado por el insecto a la producción, frente al manejo tradicional; al igual, se determinó la dosis y el modo de aplicación más eficaz, de acuerdo con la interacción del insecto y el desarrollo del cultivo, como se muestra en la Figura 2.

¹ I. A. M. Sc. Coordinador Desarrollo Técnico Comercial Clima Frio, PROFICOL S.A. j.soriano@proficol.com

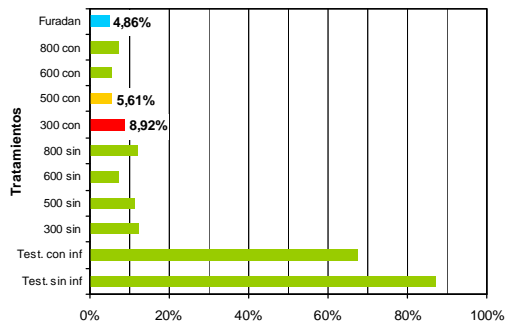


Figura 2. Tratamientos con Dimilin 25%. Porcentaje de tubérculos afectados.

Conclusión

Se cuenta con una nueva alternativa de manejo de gusano blanco (*Premnotypex vorax*), compatible con el medio ambiente e ideal para los programas de manejo integrado de plagas.

Desarrollo de un insecticida microbiano para el control biológico del gusano blanco de la papa *Premnotrypes vorax*

Carlos Espinel¹, Lissette Torres², María V. Zuluaga³,
Laura Villamizar⁴, Martha Gómez⁵, Alba M. Cotes⁶

Resumen

El gusano blanco de la papa es una de las plagas más limitantes del cultivo, debido sus características de distribución y costos de control. Para el manejo de esta plaga se han utilizado diversos métodos, siendo el uso exagerado de sustancias químicas el método más utilizado; por ello, el control biológico es una alternativa promisorio de control. Por tal motivo, se hizo una búsqueda y selección de aislamientos de *Beauveria bassiana*, escogiéndose una cepa con alta actividad (100%) bajo condiciones de laboratorio. Con dicha cepa se desarrollaron prototipos del bioplaguicida, consistentes en un granulado no dispersable, un granulado dispersable y un concentrado emulsionable, con el fin de brindar alternativas al agricultor. Se determinó la vida útil del producto en almacenamiento, siendo ésta de 18 meses bajo condiciones de refrigeración; de igual forma, se evaluó la compatibilidad *in vitro* con diferentes agroquímicos usados en el cultivo. La fase de campo se realizó en parcelas experimentales, en las cuales se determinó la dosis de aplicación, que fue el equivalente a 1g por planta, lo que equivaldría a 33 Kg \cdot ha⁻¹. Se determinaron las formas y frecuencias de aplicación del producto en parcelas experimentales en Zipaquirá, presentándose un mayor porcentaje de protección y una mayor producción en el tratamiento en que se utilizaron los gránulos no dispersables antes de la siembra y el concentrado emulsionable en emergencia completa, a porque y posaporque, siendo este tratamiento el seleccionado. Aunque se ha avanzado en el desarrollo de una alternativa biológica para el control de esta plaga, es necesario realizar otros estudios, como la determinación del efecto del pH y cantidad de materia orgánica sobre el microorganismo, la persistencia en varios ciclos de cultivo y la mezcla de cepas de hongos, todos evaluados dentro de programas que integren racionalmente más componentes de manejo de la plaga.

¹ Biólogo. Corpoica. cespinel@yhaoo.com

² Bióloga. Corpoica. lissettetorres@yahoo.es

³ I. A. Corpoica. vзуluga@hotmail.com

⁴ Química. M. Sc. en Microbiología. Corpoica. laurafernandav@yahoo.es

⁵ I. A. Corpoica

⁶ Química Farmacéutica. Ph. D. en Fitopatología. Laboratorio de Control Biológico. Corpoica, Tibaitatá. acotes@corpoica.org.co

El *Naupactus* sp. (Tiroteador): una nueva plaga en los agroecosistemas de papa en Colombia

Luis Alberto Peña¹

Resumen

En los agroecosistemas bajo los cuales se desarrollan los sistemas de producción de la zona andina de Colombia, son variadas las circunstancias que influyen para que el *Naupactus* sp. sea una plaga de importancia económica en el cultivo de papa.

El insecto se presenta como consecuencia del deterioro de los agroecosistemas, por la tala indiscriminada de bosques, el uso de pesticidas, especialmente herbicidas, y la utilización de prácticas inadecuadas en el manejo del cultivo.

El ciclo de vida del insecto es de aproximadamente 500 días. Dura en estado de larva 270 días, razón por la cual es un insecto de difícil manejo: las poblaciones se incrementan durante el verano.

Tanto la larva como el adulto del insecto causan daños a las plantas. Las larvas ocasionan roeduras circulares y superficiales que dañan, además, la calidad del tubérculo. En el follaje, el adulto causa roeduras o cortes en forma de semiluna.

En el agroecosistema papa se han encontrado larvas atacando los tubérculos desde la etapa de tuberización hasta la cosecha; en los demás cultivos el *Naupactus* sp., en estado de larva, ataca las raíces.

Los adultos de este insecto son de hábitos nocturnos; durante el día permanecen protegidos debajo de los terrones, cerca de las plantas, de las cuales se alimentan. El hábitat natural de este insecto son las praderas, especialmente donde existen leguminosas. Es un insecto polífago, se encuentra alimentándose de malezas como lengua de vaca (*Rumex crispus*), guasca (*Galinsoga parviflora*), kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y lengüilla (*Rumex cetosella*).

Palabras clave: agroecosistemas, *Naupactus* sp., sistema de producción papa.

Introducción

La alta variabilidad de los agroecosistemas donde se desarrollan los sistemas de producción de papa en la zona andina colombiana determina circunstancias variables que permiten la sobrevivencia de una gran cantidad de especies de insectos plaga. Las condiciones de cada agroecosistema definen la abundancia de las poblaciones plaga y a menudo su manejo.

Los agroecosistemas son sistemas ecológicos que constan de una o más poblaciones de utilidad agrícola y de un ambiente con el cual dichas poblaciones interactúan (incluido el hombre).

Sus componentes son los subsistemas de cultivos, de animales, el suelo, el clima, los microorganismos y macroorganismos, así como las personas que determinan su estructura

¹ I. A. M. Sc. en Producción Agrícola. Investigador Corpoica. Obonuco-Pasto. luisalpena@hotmail.com

y funcionamiento. Esta integración permite comprender las bases y dinámica de esas relaciones, así como los problemas y las soluciones.

En el agroecosistema papa, uno de los insectos plaga que en los últimos años ha ganado importancia económica es el tiroteador de la papa (*Naupactus* sp.) debido a los daños que causa al tubérculo, ocasionando pérdidas hasta de un 40% en los cultivos.

La plaga se presenta como consecuencia del deterioro de los agroecosistemas, por la tala indiscriminada del bosque, el uso indiscriminado de pesticidas y el uso de prácticas no conservacionistas en el manejo de los suelos.

La agricultura moderna no solamente desplazó conocimientos ancestrales, sino que ha causado la pérdida de una proporción importante de especies de plantas y animales. El deterioro progresivo de los recursos naturales, especialmente el suelo, ha ocasionado la degradación de sus propiedades físicas, químicas y biológicas. Entre las principales causas se reconocen el uso inapropiado de prácticas de preparación del suelo, en el cual se identifica el excesivo y uso inadecuado de implementos de laboreo y las quemadas tradicionales de los rastrojos con ausencia de rotaciones temporales y espaciales de cultivos. Así mismo, el uso inadecuado de agroquímicos ha ocasionado por, una parte, niveles de contaminación ambiental de los agroecosistemas y, por otra, el deterioro de la fauna y microflora del suelo, así como el desequilibrio de la población de insectos, con consecuencias como la aparición y/o incremento de insectos plagas.

La tendencia mundial hacia una agricultura orgánica y sustentable tiene como herramienta precisa el manejo integrado de plagas (MIP), como una forma de controlar plagas agrícolas con el menor efecto adverso a la salud y al ambiente. El MIP se ha desarrollado como alternativa a la dependencia del uso intensivo de insecticidas y busca reducir el daño que ocasionan las plagas, disminuir los costos de protección de los cultivos y evitar los efectos colaterales causados por los insecticidas.

El MIP tiene tres características fundamentales: (1) su enfoque ecológico, (2) el carácter multilateral de control y (3) la prioridad al uso de factores que causan mortalidad natural. El enfoque ecológico, se refiere a las relaciones que tiene la plaga con el medio biológico y no biológico que la rodea (agroecosistema).

El MIP, como un sistema multilateral, requiere de la integración de varios componentes que sean compatibles entre sí, con el fin de que haya estabilidad en el agroecosistema.

Finalmente, el MIP recurre a factores que causan mortalidad natural de las plagas, es decir, todos aquellos componentes del agroecosistema que tienen un efecto adverso a las mismas, como la resistencia del cultivo, los controles biológicos, las prácticas culturales que resultan adversas al desarrollo de la plaga y la utilización de sustancias, feromonas y otras prácticas que se pueden desarrollar en el agroecosistema para atraparlos.

Distribución geográfica

En el departamento de Nariño, en 1988, se detectó la presencia de una nueva plaga, la cual fue identificada como *Naupactus* sp. (Coleoptera: Curculionidae).

Es una especie que se registra como plaga en todos los cultivos de las zonas del trópico alto de Colombia. Como hospedantes principales se conocen la papa, la arveja, la alfalfa, el frijol, los pastos, el trigo y algunas malezas como la lengua de vaca (*Rumex crispus*).

Clasificación

Según Whitehead del SEL-PSI-USDA, este insecto está clasificado de la siguiente manera:

Clase: Insecta
Orden: Coleoptera
Suborden: Polyphaga
Superfamilia: Curculionoidea
Familia: Curculionidae
Subfamilia: Brachyderinae
Tribu: Naupactini
Género: Naupactus
Especie: *Naupactus sp.*

Hábitos

Los adultos de este insecto son de hábitos nocturnos; durante el día permanecen protegidos debajo de los terrones cerca de las plantas de las cuales se alimentan.

Las larvas generalmente se encuentran congregadas en el suelo, principalmente en la zona radicular, donde causan daño.

El hábitat natural de este insecto son las praderas, especialmente donde existen leguminosas (vicia y trébol). Por el uso indiscriminado de herbicidas sistémicos para el control del pasto kikuyo se ha destruido la alimentación natural de este insecto, lo que ha ocasionado que se constituya en plaga.

En rastrojos de papa se encuentra atacando malezas, especialmente lengua de vaca (*Rumex crispus*), guasca (*Gallisoga parviflora*), kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y lengüilla (*Rumex crispus*).

Daños

Tanto las larvas como los adultos causan daño a las plantas; los adultos son buenos comedores de follaje y pueden atacar indistintamente cualquier parte de la planta. Inician su alimentación por los bordes de las hojas en forma irregular y pueden pasar de una hoja a otra fácilmente. En plantas de hoja angosta (trigo, cebada, maíz, pastos), cuando la planta es aun joven, son capaces de trozar los tallos, ocasionando pérdidas hasta de un 40% en los cultivos.

En plantas de hoja ancha como frijol, se observa que cortan los peciolo y a veces las plántulas. Las larvas se alimentan de raíces donde producen cortes y como consecuencia se observa amarillamiento y pérdida de los cultivos.

En el cultivo de papa, la larva ocasiona daños en el tubérculo, causando pequeños orificios y roeduras circulares superficiales que dañan la calidad del tubérculo. En el follaje, genera roeduras o cortes en forma de semiluna, las cuales son causadas por el insecto adulto.

De acuerdo a los muestreos realizados en el agroecosistema papa, se han encontrado larvas atacando los tubérculos desde la etapa de tuberización (formación de tubérculos), hasta la cosecha, razón por la cual los tubérculos presentan una mala apariencia en el momento de la cosecha, que demeritan su calidad y, en muchos casos, la producción es rechazada en los mercados. En los demás cultivos, el *Naupactus sp.* en estado de larva ataca las raíces, especialmente en épocas de verano prolongado; en estado de adulto ataca el follaje de especies leguminosas y gramíneas. Para el control, los agricultores confunden el troteador con el gusano blanco y realizan aplicaciones periódicas de

Carbofurán o Clorpirifos, sin conocer los hábitos de la plaga y cómo se presentan las fluctuaciones poblacionales en el agroecosistema (ciclos de vida del insecto).

Ciclo de vida del tiroteador

Al igual que el gusano blanco de la papa, el *Naupactus sp.*, pasa por cuatro estados o fases, así: huevo, larva, pupa y adulto. La duración del ciclo de vida depende de las condiciones de manejo del agroecosistema, las condiciones ambientales, la cantidad de alimento que esté a su disposición y de los enemigos naturales; por lo general, el ciclo de vida oscila entre 474 y 535 días, con una vida promedio de 504 días; el ciclo de vida está muy relacionado con la altitud donde se encuentra la plaga (2.000 – 3.300 m).

- Huevo: los huevos son cilíndricos, ligeramente ovalados, de color perla y de superficie lisa. Miden 0,98 mm de largo y 0,47 mm de ancho, en promedio. Los huevos son ovipositados dentro de los tallos secos de gramíneas y leguminosas, en el suelo o en la base de la planta; la incubación tiene una duración de 31 a 35 días.
- Larva: las larvas son ápodas, de color blanco, tienen forma de C y se caracterizan por tener mandíbulas bien desarrolladas, lo que les permite roer la papa y hacer orificios.
- Presenta 5 instares, los cuales van sucediéndose unos a otros durante los 30 a 90 días de duración del estado larvario. La larva de *Naupactus sp.* se diferencia de la del gusano blanco en que esta no causa galerías en el tubérculo y dura en este estado 270 días, lo que le permite hacer daño durante todo el desarrollo vegetativo del cultivo de papa.
- Pupa: una vez que la larva deja de alimentarse se profundiza en el suelo hasta 70 cm, donde elabora una cámara pupal y se produce su transformación a adulto; esta fase dura 51 días.
- Adulto: el adulto de *Naupactus sp.*, al igual que el de gusano blanco, pasa por un proceso de melanización dentro de la cámara pupal en un tiempo promedio de 35 días.

Cuando el adulto emerge de la pupa es de color amarillo claro; a los 21 días, la mitad del cuerpo es café claro y la otra café oscuro, pasando, a los 29 días, a un estado donde todo el cuerpo es color café. Entre los 32 y 35 días adquiere un tono negro mate y abandona la cámara pupal. Algunas especies poseen líneas blancas o verdes a los lados de los élitros. El adulto mide 8,4 mm de largo y 3,6 mm de ancho.

El adulto no puede volar, debido a que los élitros están fusionados; sin embargo, tiene gran facilidad de movilización en los cultivos, donde se alimenta de las hojas en la noche y permanece oculto debajo de los terrones cerca a la planta en el día.

En lotes nuevos (praderas), el adulto permanece en la pastura y, una vez se siembra la papa, los adultos llegan, causando daños al follaje; se han encontrado hasta 25 adultos de *Naupactus sp.* por planta.

En campo, donde se almacena la papa, llega el *Naupactus sp.* para colocar los huevos, en los tallos secos de gramíneas y cerca de los tubérculos.

Manejo cultural

- Buena preparación del suelo: es importante acondicionar el suelo desde el punto de vista físico, químico y biológico en beneficio del desarrollo del cultivo de papa; con la preparación del suelo se exponen las larvas y pupas a la acción de enemigos naturales y a factores climáticos.
- Uso de semilla de buena calidad: permite que no se disemine la plaga, especialmente en lotes nuevos.
- Recolección y destrucción de residuos de cosecha: la práctica de recolección de todos los residuos, evita que las papas germinen y sean hospederos de los adultos de *Naupactus sp.*
- Eliminación de malezas: las malezas como la lengua de vaca y el nabo son hospederos del insecto y por tal motivo se deben eliminar para impedir que sirvan como refugio de los adultos.
- Aporque alto: permite crear una barrera física alrededor de la planta de papa, que impide el acceso de las larvas al tubérculo.
- Rotación de cultivos: contribuye a disminuir las poblaciones de gusano blanco e interrumpir el ciclo de vida.
- El uso de trampas o cebos: el empleo de trampas o cebos reduce las poblaciones de *Naupactus sp.* Estas trampas se elaboran con cartones o empaques viejos de fique, colocando debajo de ellos plantas de papa, a los cuales se le ha colocado un insecticida y se sitúan cada 10 metros en el terreno donde se siembra el cultivo.

Bibliografía

Canchala, C.M.B. 1992. Estudios biológicos de *Naupactus sp.* (Coleoptera: Curculionidae) nueva plaga en Nariño. Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Agrónomo, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Nariño. Pasto. 61 p.

Sánchez, P.M. 2001. Nociones fundamentales para el manejo ecológico de problemas fitosanitarios. Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. 43 p.

LISTADO DE ASISTENTES

Listado de asistentes			
Nombre	Entidad	Teléfonos	Dirección electrónica
Alvarado Gaona Alvaro E.	UPTC Tunja	7438328	aalvarado84@latinmail.com
Angel Diaz Jorge Evelio	ICA	2323751	jorgecol@hotmail.com
Arciniegas B. Nancy	Centro de Excelencia Fitosanitario	2328218	n_arciniegas@yahoo.com
Balero F. Alba Patricia	ICA	8640185	patricia_balero@yahoo.es
Barreto Nancy	Corpoica	4227339	nbarreto@corpoica.org.co
Bonilla Maria Hersilia	Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural	2437919	producti@minagricultura.gov.co
Chavarro M. Edison	ICA	4227300 ext. 1831	bioedicha@hotmail.com
Cotes P. Alba Marina	Corpoica	4227328	acotes@corpoica.org.co / cotesprado@yahoo.com
Del Valle Estrada Augusto	Fedepapa	2142989	fedepapa@sky.com
Duarte G. Héctor William	UDCA	6684700	uduarte@udca.edu.co
Espinel Correal Carlos	Corpoica	4227328	cespinel@yahoo.com
Espitia M. Eduardo	Corpoica	5452857	espitia@msu.edu.co
Florez Perdomo Elkin Hervey	Centro de Excelencia Fitosanitaria	2328218 - 8219	ehflorez@colomsat.net.co
García Rodríguez Magda Ximena	Corpoica - MIP - Control Biológico	4227300 ext. 1303	magdaxior@hotmail.com
Gómez H. Álvaro	Agricultor	6125176	
González Pinzon Milthon	Fedepapa	8526226	miltongonzalez@latinmail.com
González Edith	Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural	3341199 ext. 165	edithgonzalez09@hotmail.com
Guerrero Omar	Universidad Minuto de Dios	2212175	omaguer2@yahoo.com
Gutiérrez Restrepo Iván	CEVIPAPA	6293012	direccion@cevipapa.org.co
Guzmán Mónica	Instituto de Biotecnología – UN	3165000 ext. 16973	mnguzmanb@unal.edu.co
Herrera Carlos Alberto	Corpoica	4227300 ext. 1202	cherrera@corpoica.org.co
Jaramillo Villegas Sonia	Universidad Nacional de Colombia- Medellín	4309103	sjaramal@unalmed.edu.co
Jiménez Gómez Jaime	CIAA. Universidad J. T. L.		jaime.jaramillo@utadeo.edu.co
López Avila Aristóbulo	Corpoica- Tibaitatá	4227300	alopez@corpoica.org.co
López Quintero Javier Andrés	ICA	2956210 -4006288	moleculer_javier@hotmail.com
Martínez López Gerardo	Universidad de Caldas	6 - 8812975	gerardomartinez@yahoo.com
Moreno Pérez Manuel Guillermo	ICA – Lab. Nal. de Análisis Molecular	2920225	biotecnologia-col@hotmail.com
Nieves G. Jesús	ICA	4238730	jnievesg@hispavista.com
Ñúñez L. Carlos Eduardo	Universidad Nacional de Colombia	3165000 ext. 19078	cenuztez@unal.edu.co
Oliveros G. Oscar Arturo	Universidad Nacional de Colombia	3165000 ext. 19030	oaliveros@unal.edu.co
Ortega Pabón Maria Andrea	ICA-Tibaitatá	4227378	andrea_ortega@007mundo.com
Osoño Pablo Andrés	Corpoica	2647411	paoska_gg@yahoo.com
Peña V. Luis Alberto	Corpoica-Obonuco	7233532	corpoica@telecom.com.co
Porras R. Pedro David	Fedepapa	2142989	fedepapatecnico@yahoo.com
Ramírez Cesar A.	ICA	4227388	cesar_ramirez@colombia.com
Rivero Cruz Maria Rosmira	Universidad Nacional de Colombia	3165000 ext. 19016	mriveroc@unal.edu.co
Rodríguez Luis Ernesto	Universidad Nacional de Colombia	3242539/ 316500 EXT. 19022	lerodriguezmo@unal.edu.co
Salazar González Claudia	Universidad de Nariño	7313315	claudiasalazarg@yahoo.com
Serrano Miguel S.	Compañía Agrícola Colombiana	6500650	miguel.serrano@monsanto.com
Soriano Arias Jaime E.	Proficol S.A.	6446730	jsoriano@proficol.com
Torres T. Lisette	Corpoica	4227300 ext. 1300	lissettetorres@yahoo.es
Vélez Beatriz Elena	Universidad Nacional de Colombia	6122841	elenab_77@yahoo.com
Villamizar Laura	Corpoica	4227328	laurafemandav@yahoo.es

Listado de asistentes			
Nombre	Entidad	Teléfonos	Dirección electrónica
Villareal M. Héctor J.	Consejo Nacional de la Papa	3686350	consepapa@cevipapa.org.co
Wagner R. Héctor	Agricultor	310 - 8667119	
Zapata Pareja José Luis	Corpoica La Selva	5371490	jozapata@epm.net.co
Zuluaga Mogollón Maria V.	Corpoica	4227300 ext. 1387	vzuluaga@hotmail.com