

TRANSMISION POR VECTOR DE UN VIRUS EN CAFE (*Coffea arabica* L.) EN COLOMBIA

Carlos Arturo Betancourth García ¹

RESUMEN

Un virus en café registrado en las localidades de Andes (Antioquia) y Fusagasugá (Cundinamarca), se transmitió eficientemente en forma no persistente por el áfido *Toxoptera aurantii* en un 60% al realizar las pruebas con hembras ápteras, en un 65% con estados inmaduros y 75% con hembras aladas, cuando se realizaron pruebas de transmisión de café a café en grupos de diez insectos por planta. Cuando se realizaron las mismas pruebas de transmisión con grupos de cinco insectos la eficiencia se redujó a 34, 44 y 55% respectivamente para los diferentes tipos de insectos. De otro lado, al realizar las pruebas de transmisión por medio del vector sobre las plantas indicadoras *Chenopodium quinoa*, *C. amaranticolor*, *Datura stramonium*, *Gomphrena globosa*, *Nicotiana tabacum*, *N. bentamiana* y *Phaseolus vulgaris*, nunca se superó un 16% de eficiencia y el virus solo se transmitió a *C. quinoa* y *amaranticolor*, en las cuales se produjeron manchas cloróticas redondeadas y posterior ocurrencia de síntomas sistémicos. Observaciones al microscopio electrónico de transmisión revelaron la presencia de partículas isométricas de 50 a 60 nm de diámetro, en muestras sintomáticas tanto de café como de plantas indicadoras.

Palabras claves: Café, virus, transmisión, áfidos.

¹.Profesor Tiempo Completo. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Nariño Pasto - Colombia.

E-mail: cbet70@yahoo.com

ABSTRACT

A virus infecting coffee at Fusagasugá (Cundinamarca) and Andes (Antioquia) localities was registered. Efficiency for vector transmission using aphid *Toxoptera aurantii* was 60% with apterous adults, 65% with nymphs, and 75% with winged females, in tests from coffee to coffee using groups of ten insects. With groups of five insects, in the same tests, efficiency was 34%, 44% and 55%, respectively. Insect transmission was non persistent, and efficiency of transmission by aphids to *C. quinoa*, *C. amaranticolor* was never above 16%. In addition, there was no transmission to any of the other species tested. The experimental host range includes *C. amaranticolor* and *C. quinoa*, in which round chlorotic lesions were present, and sometimes systemic chlorosis. Observation of symptomatic foliar tissue of coffee and *C. quinoa* under transmission electron microscope revealed the presence of isometric 50-60 nm diameter particles in the cytoplasm.

Keywords : coffee, virus transmission, aphids.

INTRODUCCION

Observaciones realizadas por Leguizamón y Martínez (1998), en plantas de café de las localidades de Andes y Fusagasugá, registraron un problema asociado con clorosis foliar, mosaicos, hojas con poco brillo y severa defoliación, sintomatología que asociaron con un posible virus. Además, que muestras foliares procedentes de estos árboles y examinados bajo microscopía electrónica de transmisión en el Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, revelaron la presencia de partículas isométricas de un tamaño entre 50 a 60 nm de diámetro, que son similares a las del género *Caulimovirus*.

En la literatura se registra que los virus de éste género son transmitidos por insectos de la familia *Aphididae*, uno de ellos en forma no persistente y cuatro en forma semipersistente, sin retención en la muda, sin multiplicación en el vector, ni paso a la progenie. De otro lado, ocho de los virus estudiados en el Género son transmitidos mecánicamente y cinco no lo son; todos son transmitidos por injerto; uno por contacto entre plantas y cuatro no; ninguno de ellos presenta transmisión por semilla ni transmisión por polen (Brunt *et al.*, 1996; Lung y Prione, 1973; Brierley y Smith, 1950; Frazier, 1955).

En el presente trabajo y contribuyendo a la caracterización biológica del virus registrado en café, se determinaron en condiciones de casa de malla el vector, plantas indicadoras, pruebas de patogenicidad y forma y tamaño de sus partículas.

METODOLOGIA

El presente trabajo se desarrolló en condiciones de casa de malla, en la Universidad de Caldas, ubicado a 2.200 msnm y a una temperatura promedio de 19 °C., en invernadero en el Centro Nacional de Investigaciones de Café "Pedro Uribe Mejía" CENICAFE, localizado en el municipio de Chinchiná (Caldas), a 1.310 msnm y en la unidad de Virología del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), localizado en Palmira (Valle).

Fuente de inóculo.

Se seleccionaron árboles de café sintomáticos, que presentaban clorosis intervenal, moteado, deformación de la lámina foliar y en algunos casos defoliación y paloteo, procedentes de las poblaciones de Andes (Antioquia) y Fusagasugá (Cundinamarca).

Multiplicación de potenciales plantas indicadoras

Para las pruebas de transmisión se utilizaron las siguientes especies de plantas, registradas como potenciales indicadoras: Cenizo rojo (*Chenopodium amaranticolor* Coste y Reyn), Quinoa (*Chenopodium quinoa* L.), Chamico (*Datura stramonium* L., Willd), Globitos (*Gomphrena globosa* L., Globe), Tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), Tabaquillo (*Nicotiana bentamiana* Domin) y fríjol (*Phaseolus vulgaris* L.).

Metodología experimental

Para las pruebas de transmisión por insecto se utilizaron las siguientes especificaciones: como unidad experimental se utilizaron seis plantas de cada una de las especies herbáceas de un mes de edad, con dos pares de hojas bien desarrolladas, y seis plantas de café variedad Colombia en estado cotiledonar. Se emplearon cinco repeticiones, con ocho tratamientos correspondientes a las especies de plantas herbáceas anteriormente mencionadas y café, los cuales se distribuyeron en un diseño experimental completamente al azar y sus correspondientes testigos de las mismas especies, las cuales tuvieron la misma distribución y se ubicaron aparte para evitar contacto entre ellas.

Transmisión por potenciales insectos vectores

Para las pruebas de transmisión por vectores, luego de analizar los resultados de las observaciones de Leguizamón y Martínez (1998), quienes consideran la posibilidad de un *Caulimovirus* como responsable del disturbio, y teniendo en cuenta que los virus de este género se transmiten por áfidos, se utilizaron tres especies de estos insectos que se han registrado en el cultivo de café en Colombia (Bustillo, 1976):

Toxoptera aurantii Koch., *Myzus persicae* Sulzer y *Aphis gossypii* Glover. Los insectos recolectados se usaron para obtener colonias libres de virus y para lograrlo se utilizaron ninfas de primer instar, a partir de las cuales se formaron las nuevas colonias, teniendo en cuenta que en la mayoría de los virus transmitidos por áfidos no hay transmisión de virus a su progenie (Matthews, 1970; Sylvester, 1949, 1952, 1953, 1955). Los insectos se multiplicaron en plantas de café aparentemente sanas, buscando constantemente tener colonias vigorosas, que facilitarían la transmisión. Los insectos se mantuvieron aislados con jaulas de acetato y muselina.

Para efecto de pruebas de transmisión, se tomaron ninfas, adultos ápteros y alados, de las diferentes especies de áfidos, las cuales, se trasladaron a una caja Petri con papel toalla humedecido, haciendo uso de un pincel de punta fina, para someterlas a ayuno por una hora con el fin de aumentar la eficiencia de transmisión (Harris, 1981) y luego se expusieron a plantas de café con síntomas característicos de la enfermedad, trasladándolas de igual forma con un pincel de punta fina, tratando de evitar el contacto del pincel con la hoja sintomática, siguiendo los procedimientos descritos en la literatura para la adquisición de virus por áfidos (Messieha, 1967; Roivainen, 1969; Swenson, 1967; Sylvester, 1949, 1952, 1953, 1955; Sylvester y Simons, 1951).

Se probó un período de adquisición y de inoculación de 3 a 5 minutos aproximadamente. Se inocularon plantas de café en estado cotiledonar y plantas de las otras especies de un mes de transplantadas y se probaron grupos de 1, 5 y 10 insectos por planta. Una vez pasado el tiempo de inoculación, los insectos se eliminaron con aplicación de insecticida (Malathion), en dosis de 1 cm³/L y las plantas se mantuvieron en casa de malla a prueba de insectos, para evaluarlas, por aparición de síntomas. Se dejaron los testigos respectivos, los cuales se expusieron a insectos alimentados en plantas no sintomáticas, aparentemente sanas. Adicionalmente, se inocularon 70 plantas de café, por cada grupo y forma del insecto, para completar 100 plantas por cada tipo de grupo y de insecto.

Prueba de patogenicidad

Luego de la transmisión del virus a las plantas indicadoras y para comprobar que los síntomas registrados en tales plantas eran causados por el mismo virus, se tomaron plantas de *C. quinoa* y *C. amaranticolor* que resultaron positivas después de la transmisión, con síntomas de manchas cloróticas sistémicas y se repitió el proceso de transmisión con vector nuevamente hacia plantas de café. Se inocularon cincuenta plantas de café variedad Colombia de dos meses de edad, para comprobar que consistentemente el patógeno está relacionado directamente con el disturbio.

Microscopía electrónica

Muestras foliares de plantas sintomáticas de *C. quinoa*, *C. amaranticolor* y café se llevaron al Laboratorio de Virología del Centro Internacional de Agricultura Tropical "CIAT", para comprobar la presencia de partículas de virus en los tejidos afectados.

RESULTADOS Y DISCUSION

Transmisión por áfidos

El virus se transmitió experimentalmente de café a café, de café a *C. quinoa* y de café a *C. amaranticolor* por el áfido *Toxoptera aurantii* en forma no persistente, pero no se logró transmisión en ninguna de las otras especies de plantas probadas ni en las pruebas realizadas con *Myzus persicae* Sulzer y *Aphis gossypii* Glover, que puede explicarse por la alta especificidad de la relación virus - vector (Harris, 1981).

La mayor eficiencia de transmisión en pruebas de café a café se logró con adultos alados en grupos de 10 insectos por planta (75%), seguido por ninfas (65%) y hembras ápteras (60%). La transmisión fue menos eficiente en plantas indicadoras, observándose porcentajes de transmisión del 16 %, para grupos de diez hembras aladas por planta en *C. quinoa* y *C. amaranticolor*, seguido del 10% cuando se utilizó ninfas y hembras ápteras en las dos especies (Tabla 1).

Tabla 1. Eficiencia de transmisión por el áfido *Toxoptera aurantii*, en grupos de diez insectos por planta, en café, *C. quinoa* y *C. amaranticolor*.

Especies	Ninfas	Eficiencia (%)	Adultos alados	Eficiencia (%)	Adultos ápteros	Eficiencia (%)
<i>Colfea arabica</i> . var. Colombia	65/100 ^b	65	75/100	75	60/100	60
<i>Chenopodium quinoa</i>	3/30	10	5/30	16	3/30	10
<i>C. amaranticolor</i>	3/30	10	5/30	16	3/30	10

a/b: Número de plantas afectadas/ Número de plantas inoculadas.

Cuando se inocularon plantas de café con grupos de cinco insectos, las eficiencias fueron menores, observando la mayor eficiencia nuevamente con hembras aladas (55%), seguido del (44%) para ninfas y (34%) para hembras ápteras.

De igual manera, cuando se inocularon plantas de *C. quinoa* y *C. amaranticolor* los porcentajes también se redujeron, obteniendo un (16%) de transmisión con hembras aladas en *C. quinoa*, seguido de un (10%) para hembras ápteras y un (7%) para ninfas. En transmisión de café a *C. amaranticolor*, solo se obtuvo éxito cuando se inocularon con hembras aladas con una eficiencia del (7%), pero no se logró transmisión con hembras ápteras o ninfas (Tabla 2).

Tabla 2. Eficiencia de transmisión por el áfido *Toxoptera aurantii*, en grupos de cinco insectos por planta en café, *C. quinoa* y *C. amaranticolor*.

Especies	Ninfas	Eficiencia (%)	Hembras aladas	Eficiencia (%)	Hembras ápteras	Eficiencia (%)
<i>Coffea arabica</i> , var. Colombia	44/100	44	55/100	55	34/100	34
<i>Chenopodium quinoa</i>	2/30	7	5/30	16	3/30	10
<i>C. amaranticolor</i>	0/30	0	2/30	7	0/30	0

a/b: Número de plantas afectadas/Número de plantas inoculadas.

En pruebas de transmisión con un insecto en plantas de café, la eficiencia se redujo a un 10% para hembras aladas, seguido de un 4% con ninfas y hembras ápteras, pero no se logró transmisión en las otras especies inoculadas (Tabla 3).

Tabla 3. Eficiencia de transmisión por el áfido *Toxoptera aurantii*, en grupos de un insecto por planta en café, *C. quinoa* y *C. amaranticolor*.

Especies	Ninfas	Eficiencia (%)	Hembras aladas	Eficiencia (%)	Hembras ápteras	Eficiencia (%)
<i>Coffea arabica</i>	2/50	4	5/50	10	2/50	4
<i>Chenopodium quinoa</i>	0/50	0	0/50	0	0/50	0
<i>C. amaranticolor</i>	0/50	0	0/50	0	0/50	0

Se inocularon plantas de café en estado cotiledonar y los síntomas en café se manifestaron entre 15 a 25 días después de la inoculación, los cuales aparecieron en el primer par de hojas verdaderas, mostrando clorosis de la lámina foliar, las cuales se tomaron en bandas intervenales de color amarillo pálido y luego una tonalidad casi blanca que progresó hasta un color rojizo, que termina en necrosis del tejido. El síntoma prevalente, al utilizar este método, fue la presencia de manchas anulares cloróticas agrupadas o dispersas en la haz de la hoja.

La presencia del áfido *Toxoptera aurantii* es común en las zonas productoras de café (Bustillo, 1976), especialmente en cultivos de café asociados con cítricos o creciendo en cercanías a ellos (Bustillo, 1999, comunicación personal). Este insecto debe tenerse en cuenta para estudios epidemiológicos de la enfermedad, así como también en programas de manejo de la misma, si la importancia económica del disturbio lo amerita. Además, representa un peligro potencial ya que este insecto se encontró asociado a plantas enfermas en las dos localidades estudiadas. Cabe anotar que la mayor eficiencia de transmisión se alcanzó con hembras aladas, las cuales son las encargadas de colonizar nuevos árboles y funcionan como fundatrices de nuevas colonias. Estudios sobre la transmisibilidad de virus por áfidos dentro del género *Caulimovirus* está ampliamente documentado (Lung y Prione, 1973; Brierley y Smith, 1950; Frazier, 1955).

Pruebas de patogenicidad

Las pruebas de transmisión con vector de *C. quinoa* y *C. amaranticolor* a café, permitieron confirmar que los síntomas observados en estas plantas indicadoras están asociados con el agente causante del disturbio en café, ya que en veinte de las plantas de café inoculadas se desarrollaron síntomas similares a los encontrados en campo.

Se presentó deformación de la lámina foliar, clorosis, necrosis y defoliación que también se observan en campo. Cabe anotar que los síntomas tienden a desaparecer o atenuarse en forma periódica, cada dos o tres meses aproximadamente, pero al final la pérdida de la hoja por necrosis y defoliación es consistente en todas las plantas afectadas. Esta situación puede estar influenciada por las condiciones climáticas tal como se ha registrado en otros virus dentro del género *Caulimovirus* (Hearon y Lawson, 1981).

Microscopía electrónica

Las observaciones mediante tinción negativa al microscopio electrónico de transmisión, en tejidos foliares sintomáticos de *C. quinoa*, *C. amaranticolor* y café, mostraron partículas isométricas de un tamaño entre 50 a 60 nm de diámetro. Con cortes histológicos ultrafinos, se detectó la presencia de viroplasma ubicados en el citoplasma similares a los descritos para los *Caulimovirus* tal como se registra en la literatura (Kitajima, 1973; Fujisawa *et al.*, 1967; Fujisawa *et al.*, 1971, 1972, 1973; Rubio, 1956; Prione *et al.*, 1960, 1961; Lawson y Hearon, 1977; Hearon y Lawson, 1981); (Arroyave y Morales, 1999, comunicación personal).

CONCLUSIONES

La transmisión por el áfido *Toxoptera aurantii*, fue bastante eficiente y debe tenerse en cuenta en los estudios de epidemiología de la enfermedad, ya que se encontró asociado a plantas enfermas. Únicamente dos de las especies diferentes de café evaluadas en este estudio, *Chenopodium quinoa* y *C. amaranticolor*, se infectaron por transmisión por el áfido *Toxoptera aurantii*. Estas plantas pueden ser usadas para diagnóstico de la enfermedad gracias a la rápida expresión de los síntomas después de la inoculación y se presenta como alternativa para mantenimiento y multiplicación del patógeno, así como también para los futuros trabajos de purificación del mismo.

El virus se transmite en forma no persistente y se pierde después de unas horas. Además, presenta gran especificidad con su vector, ya que ninguna de las otras especies de áfidos probadas transmitieron el patógeno.

La forma y tamaño de las partículas encontradas en los tejidos infectados y su vector ayudan a considerar la posibilidad de que este patógeno en realidad sea una especie dentro del género *Caulimovirus*.

BIBLIOGRAFIA

- BRIERLEY, P. and SMITH, F. Some vectors, host, and properties of dahlia mosaic virus. *Plant Disease Report* 34: 363-371. 1950.
- BRUNT, A., CRABTREE, K. and GIBBS, A. *Viruses of tropical plants*. Wallingford, CAB - International, 1990. p. 620-622.
- BRUNT, A., CRABTREE, K., DALLWITZ, J.M., WATSON, L. and ZURCHER, E.J. *Plant Viruses*. Online: Descriptions and list from the vide database. Version: 20th. 1996. URL. <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide/>.
- BUSTILLO, A. Lista de áfidos (Homoptera: Aphididae) y sus huéspedes registrados en Colombia. Medellín, ICA, 1976 (Boletín Técnico No. 44). 11p.
- FRAZIER, N. Strawberry vein banding virus. *Phytopathology* 45: 307-312. 1955.
- FUJISAWA, M., RUBIO, M. and MATSUI, C. Deoxyribonuclease digestion of the nucleic acid from carnation etched ring virus. *Phytopathology* 62: 810-811. 1972.
- FUJISAWA, M., RUBIO, M. and MATSUI, C. Incorporation of thymidina-³H into carnation etched ring virus. *Phytopathology* 61: 681-684. 1971.
- FUJISAWA, M., RUBIO, M. and MATSUI, C. Deoxyribonucleic acid in dahlia mosaic virus. *Phytopathology* 64: 287-290. 1973.

FUJISAWA, M., RUBIO, M., MATSUI, C. and YAMAGUCHI, A. Intracellular appearance of cauliflower mosaic virus particles. *Phytopathology* 57: 1130-1132. 1967.

HARRIS, K.F. Arthropod and nematode vectors of plant viruses. *Annual Review of Phytopathology* 19: 391-426. 1981.

HEARON, S. and LAWSON, R.H. Effects of light intensity, photoperiod, and temperature on symptom expression and host and virus ultrastructure in *Saponaria vaccaria* infected with carnation etched ring virus. *Phytopathology* 71: 645-652. 1981.

KITAJIMA, E.W. Strawberry vein banding virus, a member of cauliflower mosaic virus group. *Journal of General Virology* 20: 117-119. 1973.

LAWSON, R.H. and HEARON, S.S. Ultrastructure of extracted carnation etched ring virus inclusion bodies treated with proteolytic enzymes and Dnase. *Phytopathology* 67: 1217-1226. 1977.

LEGUIZAMON C.J.E. and MARTINEZ L.G. Informe de observaciones preliminares de un posible nuevo disturbio en café de etiología desconocida. Chinchiná, Cenicafe, 1998. 22 p. (Sin publicar).

LUNG, M.C.Y. and PRIONE, T.P. Studies on the reason for differential transmissibility of cauliflower mosaic virus isolates by aphids. *Phytopathology* 63: 910-914. 1973.

MATTHEWS, R.E.F. *Plant virology*. New York, Academic Press, 1970. 778p.

MESSIEHA, M. Aphid transmission of maize dwarf mosaic virus. *Phytopathology* 57: 956-959. 1967.

PRIONE, T.P., POUND, G.S. and SHEPHERD, R.J. Properties and serology of purified cauliflower mosaic virus. *Phytopathology* 51: 541-546. 1961.

PRIONE, T.P., POUND, G.S. and SHEPHERD, R.J. Purification and properties of cauliflower mosaic virus. *Nature* 186: 656-657. 1960.

ROIVAINEN, O.H. Effect of vector feeding on virus transmission. *Rep. Cocoa Res. Inst. Ghana* 1967-68: 40-44. 1969.

RUBIO, M. Origin and composition of cell inclusions associated with certain tobacco and crucifer viruses. *Phytopathology* 46:553-556. 1956.

SILVESTER, E.S. Beet mosaic virus - green peach aphid relationships. *Phytopathology* 39: 417-424. 1949.

SILVESTER, E.S. Comparative transmission of beet-mosaic virus by four aphid species. *Phytopathology* 42: 252-254. 1952.

SILVESTER, E.S. *Brassica nigra* virus transmission some vector-host plant relationships. *Phytopathology* 43: 209-214. 1953.

SILVESTER, E.S. Lettuce mosaic virus transmission by the green peach aphid. *Phytopathology* 45: 357-369. 1955.

SILVESTER, E.S. and SIMONS, J.N. Relation of plant species inoculated to efficiency of aphids in the transmission of *Brassica nigra* virus. *Phytopathology* 41: 908-910. 1951.

SWENSON, K.G. Plant virus transmission by insects. In: Maramorosch, K.; Koprowski, H. eds. *Methods in virology*. vol.1. New York, Academic Press, 1967. p. 267-303.