

RECONOCIMIENTO, TRANSMISIÓN Y HOSPEDERAS DE PATÓGENOS VIRALES DEL MARACUYÁ (*Passiflora edulis* Sims) EN COLOMBIA*

Bibiana Chávez L.¹, Francia Varón de A.², Francisco Morales³,
Mauricio Castaño³, José Arroyave³ y Guillermo Gálvez⁴ E.

95905

¹ CORPOICA. E-mail: bchavezl@hotmail.com, ² I.C.A. E-mail: icasaniveg@unweb.net.co,

³ CIAT, Fax : 4450073, A.A. 6713 Cali., ⁴ Biotecol.

*Proyecto financiado por COLCIENCIAS

RESUMEN

Uno de los principales problemas para la producción de maracuyá en el Valle del Cauca y otras regiones de Colombia es la incidencia de patógenos virales en este cultivo, principalmente un potyvirus y un tymovirus. Estos patógenos afectan el crecimiento de las plantas, disminuyendo su producción y reducen la vida útil del cultivo. Debido a la importancia económica de estas enfermedades, se planteó realizar una investigación con el fin de ampliar la información sobre su distribución geográfica, transmisión, rango de hospederas y plantas indicadoras. Para el estudio de reconocimiento se visitaron 122 fincas con cultivos comerciales de maracuyá, en 11 departamentos del país y se tomaron 340 muestras con síntomas de apariencia viral, las cuales fueron utilizadas para inocular mecánicamente y por injerto plántulas establecidas en invernadero. Se realizaron los estudios de hospederas, indicadoras y transmisión. El Valle del Cauca, Caldas y Meta fueron los departamentos con mayor incidencia y severidad de síntomas virales. Mediante inoculación mecánica y por injerto se obtuvo un 17 y un 30% de transmisión respectivamente, los síntomas más frecuentes fueron clareamiento de nervaduras, mosaico y puntos cloróticos. Siete especies de *Passifloras* cultivadas y silvestres inoculadas por injerto fueron susceptibles a los virus y en ellas se obtuvieron síntomas similares a los observados en campo. En granadilla, *P. ligularis*, se observó deformación foliar y decoloración púrpura de nervaduras y hojas. Se inocularon 14 especies entre las cuales se encuentran leguminosas, solanáceas y quenopodiáceas; obteniéndose síntomas sistémicos en *Phaseolus vulgaris* var. Black Turtle Soup B, Black Turtle Bush y *Glycine max* ICA L-186 con necrosis de nervaduras, vejigas y mosaico. En *Physalis floridana* se observó clorosis intervenal muy suave. Con el áfido *Aphis gossypii* se logró un 27% de expresión de síntomas de vejigas y mosaico. Con los crisomélidos *Diabrotica sp.*, *Cerotoma sp.* y *Colaspis sp.* no se logró transmisión. Tampoco se logró transmisión por semilla al analizar más de 2000 plántulas procedentes de frutos obtenidos de plantas enfermas. Se encontraron como especies hospederas a *Passiflora foetida*, *P. cerulata*, *P. caerulea*, *P. adenopoda* y *Passiflora sp.* (Chulupa) además de las especies cultivadas comercialmente y como plantas de diagnóstico y/o indicadoras *Phaseolus vulgaris*, *Glycine max* y *Physalis floridana*.

Palabras Claves : Potyvirus, Tymovirus, Plantas hospederas, Plantas indicadoras.

SUMMARY

One of the principal production problems of passionfruit (*Passiflora edulis*) in the Cauca Valley and other departments of Colombia is the presence of viral pathogens, mainly a potyvirus and a tymovirus. These pathogens limit plants growth, reduce yields and productive life of infected plants. Due to the importance of this fruit crop in Colombia, an investigation was initiated to generate information on the geographical distribution, transmission, host range and indicators plants of the viral pathogens. For this survey, 122 passionfruit production fields were visited in 11 departments of the country a total of 340 samples with apparent viral symptoms, were collected and used to mechanically inoculate test plants under greenhouse conditions. The viral pathogens were also graft-transmitted to passionfruit and other species. Valle, Caldas and Meta were the departments with higher disease incidence and severity. Mechanical inoculation and graft-transmission tests resulted in 17 and 30% transmission respectively. The most frequent symptoms were vein-clearing, mosaic and chlorotic spots. Seven varieties of wild and cultivated passifloras inoculated by grafting were susceptible to the viral pathogens, inducing symptoms similar to those observed in the field. Inoculated granadilla, (*P. ligularis*), plants reared with foliar malformation and purpling of vein. 14 plants species were inoculated, inducing systemic symptoms in *Phaseolus vulgaris* var. Black Turtle Soup B, Black Turtle Bush and *Glycine max* ICA L-186 vein necrosis, blisters and mosaic. In *Physalis floridana* an interveinal chlorosis was observed. Biological transmission experiments with the aphid *Aphis gossypii*, resulted in 27% incidence of infected plants, shows blistering and mosaic symptoms. The chrysomelid beetles *Diabrotica sp.*, *Cerotoma sp.* and *Colaspis sp.* did transmit any virus. Seed transmission tests using more than 2000 seed originating from fruits collected from diseased passionfruit plants. Their susceptible hosts included *Passiflora foetida*, *P. cerulata*, *P. caerulea*, *P. adenopoda* and *Passiflora sp.* (Chulupa) in addition to the cultivated passifloraceae

Key words : Potyvirus, Tymovirus, Host plants, Indicators plants.

INTRODUCCIÓN

A la familia de las *Passifloras* pertenecen cerca de 400 especies las cuales son nativas de los trópicos de América, algunas especies son ornamentales y las de mayor importancia son las que producen frutos comestibles. Las especies más utilizadas en los trópicos y subtropicos son el maracuyá (*Passiflora*

edulis), la badea (*Passiflora quadrangularis*) y la granadilla (*Passiflora ligularis*).

El maracuyá está considerado como una fruta de importancia económica no solo en el Valle sino en Colombia, por su amplia aceptación en el mercado nacional y las posibilidades de exportación. Al maracuyá lo afectan patógenos virales los cuales reducen producción, la vida útil del cultivo y por ende

su rentabilidad.

Investigaciones realizadas en los años 1990 y 1991 demostraron que los virus implicados eran un potyvirus, un closterovirus y un tymovirus. Se determinó que estos patógenos afectaban el crecimiento normal de las plantas produciendo caída prematura de las hojas en más de un 50% y reduciendo la vida útil de los cultivos, obligando a su erradica-

ción antes de los 15 meses de su establecimiento, por ser totalmente improductivos (Varón et al, 1992).

De acuerdo con la consulta bibliográfica se tiene que el cultivo del maracuyá puede ser atacado por un grupo amplio virus entre los cuales se encuentran, el "passionfruit woodiness virus" (PWV) un potyvirus (Taylor & Greben, 1973) transmitido por los áfidos *Aphis gossypii*, *Toxoptera citricidus* y *Myzus persicae* de manera no persistente. Experimentalmente se logró infectar varias especies de *Passifloras* y leguminosas como *Centrosema pubescense*, *Arachis hypogaea*, *Glycine max*, *Phaseolus atropurpureus*, *P. vulgaris* var. Rico 23 y *Crotalaria usaramensis* (Chagas et al 1981; Kitajima et al, 1986). En 1981, se encontró en Taiwan el "Passionfruit woodiness potyvirus", que es considerado uno de los virus limitantes para el desarrollo de los cultivos de maracuyá. Este virus se ha conservado en maracuyá amarillo (*P. edulis f. flavicarpa*) y *Nicotiana benthamiana* (Jan & Yeh, 1995).

Un virus llamado "passionfruit mottle virus" (PaMV) se aisló de muestras de plantas de maracuyá en Taiwan. El PaMV no induce mosaico foliar severo lo que lo diferencia del PWV. Por los estudios morfológicos realizados al PaMV fue identificado como un potyvirus, el cual es transmitido por el áfido *Myzus persicae* de manera no persistente y como hospederas se encuentran entre las más importantes varias especies de *Passifloras* como *P. foetida*, *P. suberosa* y *P. incarnata*, Chenopodiaceas como *C. quinoa* y *C. amaranticolor*, leguminosas como *P. vulgaris* var. Black Turtle, *P. vulgaris* var. Dubbele White y solanaceas como *Nicotiana benthamiana* (Chang, 1992).

El "Passionfruit yellow mosaic virus" (PYMV) es un tymovirus transmitido por el crisomérido *Diabrotica speciosa*. El rango de hospederas se limita a especies de *Passifloras* como *P. edulis*, *P. edulis f. flavicarpa*, *P. coerulea* y *P. serrata - digitata*. El origen del PYMV es desconocido, por cuanto no se relaciona con otro tymovirus encontrado en Brazil en tomate "Tomato white necrosis virus" (TWNV) (Crestani et al, 1986).

Respecto al virus del mosaico del pepino "cucumber mosaic virus" (CMV), un cucumovirus de partículas esféricas de 30 nm de diámetro este se encontró en Brazil infectando plantas de maracuyá amarillo (*Passiflora edulis f. flavicarpa*). El CMV se transmitió mecánicamente a varias especies de plantas indicadoras produciendo lesiones locales en *Vigna unguiculata* y *Chenopodium quinoa* e indujo síntomas sistémicos en *Nicotiana glutinosa*, *N. tabacum* var. White Burley, *P. edulis f. flavicarpa*, *Lycopersicon esculentum*, *Cucumis sativus* y *Cucurbita pepo*. El áfido *Myzus persicae* transmite el virus a plantas de maracuyá y de pepino pero no a plantas de tabaco (Colariccio et al, 1987).

Chagas et al (1984), aislaron un virus isométrico de 24 nm de diámetro llamado "Virus del mosaico del maracuyá rojo"; fue transmitido mecánicamente solo a plantas de maracuyá rojo y amarillo, no hubo transmisión con el áfido *Myzus persicae* y no está relacionado serológicamente con el virus del mosaico del pepino "Cucumber mosaic virus".

También se detectó un rhabdovirus en Brazil llamado "Passionfruit vein clearing" afectando plantas de maracuyá amarillo (*P. edulis f. flavicarpa*); este virus no se ha logrado transmitir manualmente o mediante áfidos (Kitajima & Crestani, 1985).

En la costa norte del Perú los cultivos de maracuyá fueron atacados por el virus de la mancha anular del tomate "Tomato ringspot virus" un nepovirus en cuyo rango de hospederas se encuentra a *C. amaranticolor*, *Cucumis sativus*, *P. vulgaris*, *N. tabacum* y *V. unguiculata* y como vector se registra el nematodo *Xiphinema americanum* (Koenig y Fribourg, 1986).

Un tobamovirus identificado como "maracuja mosaic virus" (MrmV-FL) se detectó en 1986 en plantas de *Passiflora incarnata* L. colectadas en Florida; este aislamiento induce síntomas sistémicos en plantas inoculadas manualmente de *N. benthamiana*, *P. edulis f. edulis*, *P. edulis f. flavicarpa*, *P. foetida*, *P. incarnata* y *P. quadrangularis* (St Hill et al., 1992). Fribourg y colaboradores registraron este mismo virus en el Perú; el Tobamovirus de Florida está relacionado serológicamente con el de Perú pero es un aislamiento diferente; ambos virus difieren del tobamovirus encontrado en *P. caerulea* en India (Fribourg et al, 1987).

Un carlavirus, "Passiflora latent virus" (PLV - FL) fue encontrado en plantas de *Passiflora x Incense* en Alachua, Florida, detectado previamente en Alemania. *Passiflora x Incense* es un híbrido estéril de *P. incarnata x P. cincinnata*. Este es el segundo registro de PLV y el primero que muestra la susceptibilidad de *P. edulis f. edulis*, *P. edulis f. flavicarpa*, *P. foetida* y *P. incarnata* al PLV (St Hill et al., 1992).

Otro carlavirus fue encontrado ampliamente distribuido en cultivos comerciales de maracuyá (*Passiflora edulis*) en Australia. Las partículas mostraron una fuerte afinidad por el antisuero preparado de passiflora latent carlavirus (PLV) de Alemania, pero menos afinidad por los antisueros de potatoe virus S y M y PLV de USA. El virus fue encontrado en *P. suberosa*, *P. subpeltata* y *P. edulis* (Pares et al, 1997).

De acuerdo a estudios preliminares, la presencia de virus y la falta de asistencia técnica, unido a factores de comercialización y mercado, desmotivó a muchos agricultores a continuar sembrando el maracuyá. La falta de estudios relacionados con la distribución geográfica, mecanismos de transmisión, hospederas y la diseminación de estos virus

en el campo, justifican la realización de esta prospección de las principales regiones productoras de maracuyá en Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo comprende una prospección de campo que incluye las principales zonas productoras de maracuyá en Colombia. Las muestras tomadas se utilizaron en ensayos de laboratorio e invernadero para realizar las pruebas biológicas y estudios de transmisión.

Fase de Campo

Se visitaron las principales zonas productoras de maracuyá en Colombia, midiendo el porcentaje de incidencia con base en el número de plantas afectadas en el cultivo, y la severidad, teniendo en cuenta el grado de afección según la siguiente escala: severa, media y suave.

En el cultivo se caracterizaron síntomas que podrían asociarse con enfermedades virales y se tomaron muestras de hojas, tallos y frutos. Estas muestras se guardaron refrigeradas en bolsas de polietileno con su respectiva información (Nombre de la finca, propietario, municipio, vereda y síntomas observados), hasta el momento de ser procesadas.

Fase de Laboratorio e Invernadero

Comprende la inoculación, transmisión mecánica o por injerto, los estudios de transmisión por insectos y la determinación de plantas hospederas y/o indicadoras, además la conservación de los diferentes aislamientos.

Métodos de Inoculación

Con el fin de verificar la transmisión del disturbio observado en el campo y expresado mediante síntomas característicos se inocularon manualmente o por injerto las plantas establecidas en el invernadero y conservadas en jaulas a prueba de insectos.

Inoculación Manual. De las muestras recolectadas se tomaron 3 ó 4 hojas jóvenes con los síntomas anormales observados en el campo, se maceraron en un mortero esterilizado agregando buffer de fosfato al 0.01 M y pH 7.0. El extracto obtenido de la maceración de las hojas enfermas se frotó con una gasa estéril en las hojas jóvenes de plantas de maracuyá las cuales habían crecido en suelo desinfectado con Basamid y conservadas en jaulas a prueba de insectos.

Una vez realizada la inoculación, las plantas se lavaron con agua corriente y se colocaron nuevamente en la jaula para ser observadas diariamente hasta la aparición de los síntomas.

Para determinar la eficiencia en los Estudios de transmisión manual o mecánica se evaluaron tampones de fosfato va-

riando la concentración y el pH.

Inoculación por Injerto. De las plantas enfermas traídas del campo se tomaron estacas o brotes para inocular plantas sanas, utilizando injerto de púa terminal. Este injerto consistió en realizar un corte horizontal en el patrón mediante una hendidura e introduciendo en ella la estaca enferma con cortes en bisel teniendo cuidado de que los haces vasculares hicieran contacto para que existiera traslocación del virus.

Las plantas injertadas se colocaron dentro de una jaula a prueba de insectos hasta la aparición de síntomas. Como testigo se utilizaron plantas sin injertar cortadas de igual manera que las inoculadas.

Todas las plantas se analizaron por microscopía electrónica y serología para determinar la presencia de partículas virales.

Inoculación por Insectos. Se colectaron y multiplicaron áfidos de las especies *Aphis gossypii* procedentes de sandía; *Toxoptera sp.* de Cítricos y áfidos no identificados de *Cyperus rotundus* y *Codiaeum variegatum*. Cada población se sometió a ayuno durante 20 minutos. Los áfidos se colocaron en plantas enfermas durante 20 segundos al cabo de los cuales se pasaron a plantas sanas por 20 segundos; terminado este tiempo los áfidos fueron eliminados. Se inoculó cada planta con un número mínimo de 20 individuos. Las plantas se dejaron hasta la aparición de síntomas.

Se utilizaron los crisomélidos *Diabrotica sp.*, *Cerotoma sp.* y *Colaspis sp.*, los cuales se colectaron en soya y se dejaron en ayuno cuatro horas, luego de este tiempo se colocaron 20 individuos de cada especie a alimentarse en plantas enfermas por un periodo de 3 días, luego se pasaron estos insectos a plantas sanas y se mantuvieron hasta que murieron.

Transmisión Mecánica. Para el estudio de transmisión a través de herramienta se podaron en forma consecutiva 30 plantas sanas de maracuyá con unas tijeras previamente contaminadas de virus y se dejaron en observación hasta la aparición de síntomas.

Transmisión por Semilla. Se sembraron 2920 semillas de maracuyá procedentes de frutos de plantas infectadas por potyvirus, después de la germinación las plantas se analizaron mediante microscopía electrónica y serología en la Unidad de Virología del CIAT, para determinar si estaban infectadas.

Determinación de Plantas Hospederas y/o Indicadoras

Se escogió un número amplio de especies de plantas que según la revisión de literatura sirven como indicadoras o portadoras de diferentes componentes virales. Las semillas de estas especies se pusieron a germinar en

suelo desinfectado con Basamid. Cuando las plantas seleccionadas tuvieron sus hojas verdaderas se inocularon manualmente siguiendo el mismo procedimiento descrito anteriormente, y se dejaron en jaulas a prueba de insectos por un periodo de 30 días para observar aparición de síntomas. Para comprobar la viabilidad del inoculo se inocularon plantas de maracuyá.

Además, se sembraron otras especies de *Passifloras* las cuales fueron inoculadas manualmente y por injerto. Para cada una de las especies se dejaron plantas testigo sin inocular e injertar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fase de Campo

En el periodo 1996, 1997 y 1998 se visitaron 122 fincas y se tomaron 340 muestras en cultivos localizados en 11 departamentos (Tabla 1) en las cuales se observaron síntomas de moteado clorótico, deformación de hojas, mosaico, manchas cloróticas con apariencia anular o pecosa, manchas moradas, vejigas, engrosamiento de nervaduras, hojas coriáceas, clareamiento de nervaduras y clorosis intervenal (Figura 1).

En los departamentos del Valle, Cauca y Meta se encontró la mayor incidencia y severidad de los síntomas destacándose la presencia de vejigas, deformación, hojas coriáceas y mosaico. En los demás departamentos visitados la severidad fue de media a suave (Tabla 1).

Fase de Laboratorio e Invernadero

Inoculación Manual

De las 963 plantas de maracuyá inoculadas manualmente 167 expresaron síntomas lo que corresponde a un porcentaje de infección del 17%. En las plantas inoculadas manualmente predominaron los síntomas de vejigas, deformación, mosaico y "hoja acaracolada" (Figura 2). Esta situación permite concluir que algunos de los síntomas observados en el campo son transmitidos mecánicamente (Tabla 2).

Los síntomas obtenidos mecánicamente son similares a los registrados por varios investigadores al trabajar con enfermedades virales en maracuyá.

Entre los virus que se transmiten mecánicamente y que pueden presentar síntomas similares en *passifloras* silvestres y comerciales se detectaron el "Passionfruit woodiness virus" (PWV - Potyvirus) es transmitido por la savia a plántulas de maracuyá y a algunas leguminosas induciendo síntomas de mosaico sistémico (Chagas et al, 1981). En Taiwan (China) otro aislado del PWV por inoculación manual indujo síntomas de moteado, mosaico y frutos manchados y de

cáscara gruesa en plantas de *Passiflora edulis*, *P. edulis f. flavicarpa* y *P. edulis x P. edulis f. sp. flavicarpa* (Chang, 1992). "Passionfruit mottle virus" (Potyvirus) produjo por inoculación manual síntomas de moteado, puntos cloróticos y mosaico en plantas de *Passiflora edulis*, *P. edulis f. flavicarpa* y *P. edulis x P. edulis f. sp. flavicarpa* (Chang, 1992).

En Colombia Varón de Agudelo et al (1992), transmitieron mecánicamente a plantas de maracuyá sano un potyvirus y un tymovirus. Benschel et al (1996) al analizar diferentes aislados procedentes de maracuyá, badea y granadilla comprobaron la presencia de un Potyvirus.

Con tampón de fosfato a pH 8.0 y 8.5 no se obtuvieron síntomas de virus indicando que estos pH's altos inhiben estos patógeno. Con los pH's 6.5, 7.0 y 7.5 se obtuvieron porcentajes de transmisión de 9.8, 12.5 y 10.4 respectivamente en las plantas inoculadas manualmente (Tabla 3). Estos resultados están indicando que el pH 7.0 es ideal para realizar las inoculaciones manuales tanto para transmitir algunos síntomas como para conservarlos.

Otro aspecto importante a considerar es que la desinfección de la herramienta con detergentes o blanqueadores de pH mayores a 8.5 ayudaran a inactivar los virus y por consiguiente evitaran su diseminación.

Inoculación por Injerto

De 1038 injertos de púa terminal realizados durante estos tres años se observaron síntomas en 311 plantas que corresponde a un 30% de transmisión. Los síntomas que se obtuvieron fueron vejigas, mosaico, deformación, clareamiento de nervaduras, clorosis intervenal, arrugamiento de nervaduras, manchas cloróticas anilladas y manchas amarillas (Tabla 2, Figura 3).

La transmisión por injerto fue más efectiva y los síntomas fueron rápidamente expresados en los nuevos brotes del patrón, indicando que hubo traslocación del agente causal.

Estos resultados concuerdan con Varón et al (1992), quienes encontraron que los virus del maracuyá se transmiten por injerto a plantas de maracuyá causando síntomas de clorosis foliar, enrollamiento de hojas, manchas amarillas entre otros.

De 213 muestras analizadas mediante pruebas serológicas durante 1997 y 1998, en la Unidad de virología de CIAT, un 76.5% mostró partículas de potyvirus, un 2.5% tymovirus, un 2.3% una mezcla de potyvirus y tymovirus y un 18.7% fue negativo (Moraes et al, Informe de Progreso

1998 Colciencias -CIAT -CORPOICA). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Varón de Agudelo et al (1992), quienes encontraron un complejo viral afectando maracuyá y destacaron la presencia de un potyvirus y un tymovirus.

Tabla 1. Reconocimiento y evaluación de síntomas de enfermedades virales en cultivos de Maracuyá en 11 Departamentos de Colombia

Departamentos	Municipio	No. Fincas	No Muestras	No muestras positivas	Severidad/ Incidencia	Síntomas	
Valle	Ginebra	7	23	17	**/**	MA, D, V, M, HC	
	Bolivar/ Higuercito	2	4	0	**/**	V, HC	
	Roldanillo		4	6 granad.	2	**/**	DP
			6	32	20	**/**	M, V, CL, D
	Caicedonia		2	2 granad.	1	**/**	DP
			3	9	2	**/**	V, MA, D
	Toro	3	14	6	**/**	M, V, CL	
	La Unión		1	1 granad.	1	**/**	DP
			5	19	7	**/**	CL, CI, M
	Cerrito / Santa Elena		1	2 granad.	1	**/**	DP
			6	28	28	**/**	V, MA, EC
			1	1 badea	1	**/**	M
		Rozo	4	19	15	**/**	V, M, D, HC
			1	1 badea	0	**/**	M
		Tulua	1	1	1	**/**	V, CL
		Trujillo	1	4	4	**/**	V, D
			1	1 granad.	0	**/**	DP
		Versalles	1	1 granad.	1	**/**	DP
		Guacari	1	1 curuba negra	0	**/**	PR, EC
Cauca	Yumbo	1	1	1	**/**	CL, M	
	Santander de Quilichao	2	19	1	**/**	V, HCr, M	
Santander	Giron	10	20	6	**/**	D, M, CI	
	Lebrija	4	15	1	**/**	D, CL	
Risaralda	Rio Negro	2	2	1	**/**	M	
	Risaralda	5	12	5	**/**	V, CI, M	
Caldas	Anserma	1	2	1	**/**	V, D, M	
	Guarani	1	2	0	**/**	V, D, M	
	Neira	2	7	0	**/**	M, V, CI, MA	
Huila	Anserma	1	2	1	**/**	D, M, V	
	Altamira	1	2	2	**/**	V, D, MA	
	Guadalupe	1	2	1	**/**	V, D, MA	
Antioquia	Agrado	1	7	2	**/**	V, D, CI	
	Garzon	3	7	4	**/**	V, D, CI	
	Sopetran	20	23	22	**/**	M, D	
Magdalena	Sevilla	1	6	5	**/**	NC, D, V	
	Guachaca	2	2	2	**/**	V, D	
	Buritaca	1	1	1	**/**	CI, V	
Bolívar	Santa Marta	1	4	2	**/**	MA, D, CI	
	Carmen de Bolívar	1	2	0	**/**	D	
Meta	San Jacinto	2	4	0	**/**	V, D, CI	
Quindío	Granada	4	7	1	**/**	M, MA, V, D	
	Tebaida	3	17	0	**/**	V, CI, M	
	Genova	1	1 granad.	0	**/**	DP	
TOTAL		122	340	166			

Severidad: Severa = ***, Media = **, Suave = *

Incidencia: * = 1-10%; ** = 10-50%; *** = 50-100%

M= mosaico; D= deformación; HC= hoja de caracol; CL: clareamiento de nervaduras; CL: clorosis intervenal MA: manchas amarillas; DP: decoloración púrpura; V: vejigas; NC: engrosamiento nervaduras; HCr: hoja coriacea EC: entrenudos cortos.

Con estos resultados se seleccionaron los aislamientos No. 83 que corresponde a partículas de potyvirus, No. 85 y 120 una mezcla de potyvirus y partículas esféricas y No. 123 asintomático con partículas esféricas relacionadas con tymovirus y fueron usados en las inoculaciones mecánica y por injerto para determinar rango de hospederas y/o plantas de diagnóstico.

El potyvirus encontrado en el 76,5% de las muestras analizadas corresponde a una cepa del virus del mosaico de la soya (SMV) (Morales et al, Informe de progreso 1998 Colciencias -CIAT -CORPOICA). Coincidiendo esto con los resultados obtenidos por Bensch et al (1996) cuando trabajaron con virus procedente de passifloras de Colombia como la badea, maracuyá y granadilla anali-

zados por secuenciación y clonación de aminoácidos correspondieron a una cepa similar en un 98% al potyvirus del mosaico de la soya.

Por otro lado la presencia de un tymovirus coincide con los estudios de Crestani et al (1986), quienes encontraron que el "pasión fruit yellow mosaic virus", es un tymovirus y se transmite por injerto y por inoculación

Tabla 2. Pasifloras inoculadas como plantas hospederas de virus.

Especie	Plantas Inoculadas		Plantas con Síntomas		% Transmisión		Síntomas Sistémicos	
	manual	injerto	manual	injerto	manual	injerto	manual	
							injerto	
<i>Pasiflora edulis</i>	963	1038	167	311	17	30	M, V, D, HC	M, V, D, CL, CI, MA
<i>Pasiflora ligularis</i>	58	10	3	7	5	70	DP	DP
<i>Passiflora quadrangularis</i>	15	17	0	6	0	35	-	M, CL
<i>Passiflora adenopoda</i>	6	13	4	5	67	38	CL, M, V	M, V
<i>Pasiflora foetida</i>	0	19	0	10	0	53	-	CL, M, MA
<i>Passiflora caerulea</i>	0	4	0	4	0	100	-	CL, D, M
<i>Pasiflora cerulata</i>	0	8	0	8	0	100	-	D, M
<i>Passiflora sp. (chulupa)</i>	0	22	0	8	0	36	-	D, M, CL

M = mosaico ; D = deformación ; HC = hoja clorótica ; CL = clareamiento de nervaduras ; CI = clorosis intervenal ; MA = manchas amarillas ; DP = decoloración púrpura ; V = vejigas.

Tabla 3. Transmisión mecánica evaluando Tampón de Fosfato a diferentes pHs.

pH	Plantas Inoculadas	Plantas Con Sintomas	%	Síntomas Observados
6.0	105	6	5.7	Clareamiento de nervaduras
6.5	102	10	9.8	Clareamiento de nervaduras
7.0	112	14	12.5	Mosaico, Clareamiento de nervaduras
7.5	115	12	10.4	Clareamiento de nervaduras
8.0	65	0	0	Ninguno
8.5	74	0	0	Ninguno

Tabla 4. Especies de insectos utilizados en las pruebas de transmisión

Insecto*	Plantas Enfermas/ Plantas Inoculadas	%	Síntomas Expresados	Partículas Observadas
<i>Aphis gossypii</i>	20/75	27	Mosaico, vejigas, deformación.	Potyvirus
<i>Toxoptera sp.</i>	0/42	0	Ninguno	Ninguna
Afido de <i>Cyperus</i>	0/9	0	Ninguno	Ninguna
Afido de Croto	0/5	0	Ninguno	Ninguna
<i>Diabrotica sp.</i>	0/13	0	Ninguno	Ninguna
<i>Cerotoma sp.</i>	0/10	0	Ninguno	Ninguna
<i>Colaspis sp.</i>	0/24	0	Ninguno	Ninguna

* 20 individuos por planta.

mecánica. Los síntomas de clareamiento de nervaduras que se extiende por toda la hoja formando una red son característicos.

Los mayores porcentajes de transmisión por injerto indica que la mejor forma de conservación de los aislados bajo condiciones de invernadero es inoculando las plantas por injerto.

Inoculación con Insectos

Inoculación con áfidos : Con el áfido *Aphis*

gossypii se logró la transmisión de mosaico, vejigas y deformación en el 27% de las plantas inoculadas (Figura 4). En análisis de microscopía electrónica y serología se encontraron estos síntomas asociados a partículas flexuosas similares a potyvirus (Tabla 4) ; con *Toxoptera sp.* no se logró transmitir el virus. Estos resultados concuerdan con los de Varón et al (1992) quienes obtuvieron un 80% de transmisión con el áfido *A. gossypii* y los de Bensch et al (1996), quienes confirmaron la transmisión del potyvirus del mo-

saico común de la soya de maracuyá con *A. gossypii* y de una manera ineficiente con *Toxoptera citricida*. Con los áfidos no identificados colectados en croto y *Cyperus rotundus* no se obtuvieron síntomas en las plantas inoculadas (Tabla 4).

Inoculación con Crisomélidos : con las tres especies de crisomelidos *Diabrotica sp.*, *Cerotoma sp* y *Colaspis sp* no se reprodujeron síntomas de la enfermedad (Tabla 4), resultados que difieren de los obtenidos por Crestani et al (1986), quienes realizaron ensayos con tres especies de crisomélidos diferentes (*Cerotoma arcuata*, *Diabrotica bivittula* y *D. speciosa*). Sólo la especie *Diabrotica speciosa* transmitió el tymovirus "Passionfruit yellow mosaic" (PYMV) después de 48 horas de inoculación, aunque los crisomélidos no se alimentaron bien en las plantas de maracuyá. Las especies *Cerotoma arcuata*, *Diabrotica bivittula* rehusaron alimentarse de maracuyá.

En pruebas serológicas y de microscopía electrónica realizadas recientemente a plantas de maracuyá injertada con el aislamiento No. 123 se encontraron partículas esféricas similares a las de tymovirus ; sin embargo estas plantas no muestran los síntomas característicos del PYMV (tymovirus) considerándose un aislamiento asintomático.

Transmisión Mecánica

Las plantas inoculadas mediante herramienta contaminada con la muestra la No. 120 (mezcla de partículas flexuosas y esféricas) presentaron un 6.6% de transmisión de síntomas de clareamiento de nervaduras, indicando que estos virus se transmiten de forma mecánica por la herramienta; estos resultados coinciden con los obtenidos por Crestani et al (1986), quienes encontraron transmisión a plantas sanas al podar con tijeras ramas de plantas infectadas con el PYMV (tymovirus).



Figura 1. Planta de maracuyá con síntomas de mosaico colectada en el campo (Foto: Francia Varón de A.)

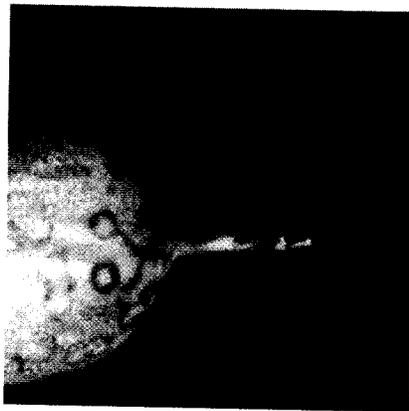


Figura 5. Hojas y fruto de granadilla (*P. ligularis*) infectados por potyvirus, nótese la coloración púrpura en las nervaduras y las mancha anilladas en el fruto. (Foto: Francia Varón de A.)

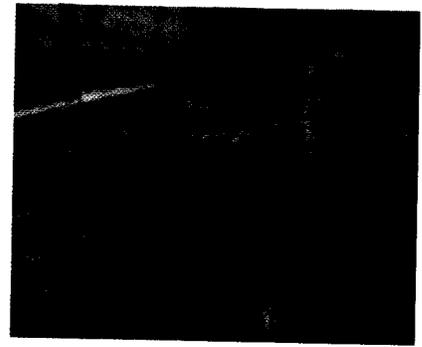


Figura 8. Planta de soya (*Glycine max*) con síntomas de mosaico y ampollas causados por el virus del maracuyá. (Foto: Bibiana Chávez.)



Figura 2. Síntomas de hoja "acaracolada" en una planta de maracuyá inoculada mecánicamente. (Foto: Francia Varón de A.)



Figura 6. Planta de badea (*P. quadrangularis*) con síntomas de aclareamiento de nervaduras, después de inoculada por injerto.



Figura 9. Planta de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) var. "black turtle" mostrando síntomas locales consistentes en necrosis de nervaduras. (Foto: Ricardo Alzate)



Figura 3. Presencia de ampollas y mosaico en una planta inoculada de maracuyá mediante injerto. (Foto: Ricardo Alzate.)

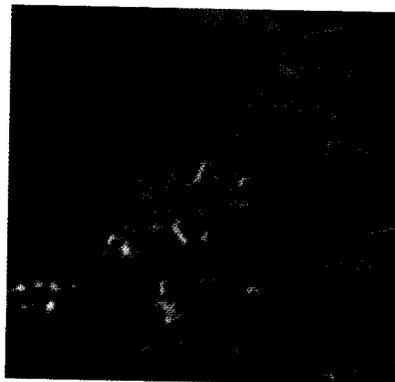


Figura 7. *Physalis foetida* con síntomas de aclareamiento de nervaduras. (Foto: Ricardo Alzate.)

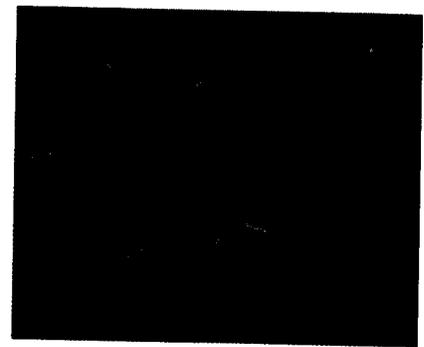


Figura 10. Planta de *Physalis floridana* con clorosis intervenal en los brotes jóvenes. (Foto: Bibiana Chávez.)



Figura 4. Planta de maracuyá inoculada por áfidos mostrando síntomas de mosaico y ampollas. (Foto: Ricardo Alzate.)

Esto indica que al realizar las podas de formación y de mantenimiento en las primeras etapas del cultivo es necesario ser cuidadosos porque podría estar diseminándose la enfermedad en el campo por no desinfectar la herramienta cuando se realizan las podas.

Transmisión por Semilla

El 70% de las semillas sembradas germinaron (2040). El análisis realizado en la Unidad de Virología del CIAT para determinar potyvirus fue negativo; esto indica que esta cepa del virus del mosaico de la soya no se transmite por semilla cuando infecta maracuyá. En soya un porcentaje de semillas de plantas infectadas son portadoras del virus, y puede permanecer viable en la semilla hasta por dos años (Sinclair, 1982).

Chang en 1992, realizó ensayos con 235 y 198 semillas provenientes de plantas de maracuyá infectada con PaMV y PWV ambos potyvirus; un mes después de germinadas, las plántulas fueron indexadas por el método ELISA con resultados negativos.

Benschler et al (1996), realizaron estudios de transmisión utilizando semilla de frutos de plantas de maracuyá y granadilla infectadas con aislados colombianos, pero no observaron síntomas en las plántulas obtenidas; estos registros están confirmando que el potyvirus encontrado en Colombia no se transmite por semilla.

Determinación de Plantas Hospederas y/o Indicadoras

De un grupo de plantas inoculadas manualmente se escogieron aquellas especies que presentaron síntomas y se caracterizaron así: Plantas hospederas: las que se encontraron

infectadas en forma natural, en este caso las especies de *Passifloras*.

Plantas diagnósticas: las que al inocularlas manualmente con una muestra ya identificada y presentaron síntomas de lesiones locales, necrosis o mosaico sistémico.

Plantas indicadoras: fueron todas las plantas del grupo de diferenciales que presentaron síntomas sistémicos y/o lesiones locales.

En granadilla (*P. ligularis*) se obtuvo un 5% por transmisión mecánica y 70% por injerto con las muestras de granadilla y maracuyá con síntomas de virus (potyvirus) y se logró expresión de decoloración púrpura de las nervaduras (Tabla 2, Figura 5); los síntomas obtenidos son similares a los registrados en granadilla. La presencia de un potyvirus infectando estas plantas fue confirmado por análisis de Western blot usando un anticuerpo monoclonal específico para potyvirus (Benschler et al, 1996).

Se injertaron 17 plantas de badea con muestras de maracuyá con síntomas de virus (potyvirus) de las cuales 6 presentaron síntomas de mosaico y clareamiento de nervaduras (Tabla 2, Figura 6) con un 35% de transmisión. De acuerdo con Benschler et al (1996), la badea es afectada por un potyvirus (COL - S).

En *P. foetida* se logró un 53% de expresión de síntomas de clareamiento de nervaduras, mosaico, clorosis intervenal y manchas amarillas cuando se inocularon por injerto con la muestra No. 83, que presenta partículas flexuosas semejantes a potyvirus, muestras No. 51, 85, 120 y 229 que presentan una mezcla de partículas flexuosas y esféricas (Tabla 3, Figura 7), al realizar las pruebas de microscopía electrónica y serología se encontró solamente partículas flexuosas semejantes a potyvirus. *P. foetida* cuando es ino-

culada con los potyvirus PaMV y PWV presenta síntomas de mosaico y marchitamiento (Chang, 1992).

En *Passiflora sp.* (Chulupa) se encontró un 36% de expresión de los síntomas de vejigas, deformación y clorosis en hojas, cuando se injertaron con las muestras No. 83 (potyvirus), 51, 55, 85 y 229 (mezcla de partículas flexuosas y esféricas) (Tabla 2).

En *P. cerulata* se encontró mosaico suave y deformación con un 100% de expresión de síntomas cuando se injertaron con las muestras No. 83 (potyvirus), 51, 85 y 120 (mezcla de partículas flexuosas y esféricas) (Tabla 2).

En *P. caerulea* se presentaron síntomas de manchas cloróticas y clorosis intervenal en las hojas cuando se injertaron con las muestras No. 2, 3, 6 y 9 que presentaban partículas de potyvirus (Tabla 3).

En *P. adenopoda* se obtuvo por injerto un 38% de expresión de síntomas de mosaico y vejigas con las muestras No. 83 (Potyvirus) y 55 (mezcla de partículas flexuosas y esféricas) y un 67% por inoculación mecánica con las muestras No. 83 (Potyvirus) y 120 (mezcla de partículas flexuosas y esféricas) de síntomas como mosaico, vejigas y clareamiento de nervaduras (Tabla 2) según las pruebas serológicas y de microscopía electrónica corresponde a potyvirus.

Las leguminosas y solanáceas fueron manualmente inoculadas con muestras que según los estudios de microscopía electrónica y serología presentaban partículas de potyvirus, tymovirus o la mezcla de ambos virus.

En soya (*Glycine max*) var. L-186 se logró un 10% de expresión de síntomas sistémicos como mosaico, vejigas y clorosis cuando se inocularon manualmente con la muestra No. 83 (potyvirus) (Tabla 5, Fig. 8).

Tabla 5. Especies inoculadas para determinar rango de hospederas de los virus que afectan al maracuyá en Colombia.

Especie	Plantas Inoculadas	Plantas con Síntomas	% Transmisión	Síntomas	
				Locales	Sistémicos
<i>P. vulgaris</i> var. Black Turtle soup				NN	M
<i>P. vulgaris</i> var. Black Turtle bush	173	13	7.5		
<i>P. vulgaris</i> var. Black Turtle soup B	92	10	11	NN	M, NN, AM
<i>P. vulgaris</i> var. Rico 23	150	22	15	NN	M
<i>P. vulgaris</i> G-040059	133	16	12	NN	M, NN
<i>Glycine max</i> var. SV-87	31	7	23	NN	AM, M
<i>Glycine max</i> var. L-186	71	1	1.4	-	M
<i>Glycine max</i> var. Altillanura	126	13	10.4	-	M, V, HC
<i>Physalis floridana</i>	101	3	3	-	M
<i>Physalis peruviana</i>	82	5	6	-	CI
	44	0	0	-	-

NN = necrosis de nervaduras; M = mosaico; AM = amarillamiento; HC = hoja clorótica; CI = clorosis intervenal; V = vejigas.

En *P. vulgaris* var. Black Turtle se presentaron síntomas de necrosis de nervaduras en las hojas donde se depositó el inoculo y mosaico en las hojas que se formaron más tarde cuando se inocularon con las muestras No. 83 (potyvirus), 51, 85 y 120 (mezcla de partículas flexuosas y esféricas) (Tabla 5, Figura 9).

Chang (1992) encontró que *P. vulgaris* var. Sutter Pink y Dubbele witte fueron susceptibles al "Passionfruit mottle virus" PaMV (potyvirus) y presentaron síntomas de mosaico sistémico y *P. vulgaris* var. Black Turtle fue susceptible al potyvirus "Passionfruit woodiness virus" PWV.

Los aislados colombianos COL-22 y COL-GR tuvieron el mismo rango de hospederas, ambos aislados causan necrosis apical y muerte de las plantas de *P. vulgaris* var. Black Turtle-1 y mosaico sistémico en *P. vulgaris* var. Black Turtle-2, soya, maracuyá y granadilla cuando se inocularon manualmente. Los síntomas observados en frijol y soya fueron muy similares a los causados por el aislado de "Soybean mosaic virus" SMV 76/6 (Benschler et al, 1996). Estos trabajos confirman que *Phaseolus vulgaris* var. Black Turtle y *Glycine max* es una especie indicadora del potyvirus procedente de maracuyá.

En *Physalis floridana* se encontró un 6% de expresión de síntomas de clorosis intervenal suave cuando se inoculó manualmente con la muestra No. 85 (mezcla de partículas flexuosas y esféricas) (Tabla 5, Figura 10). En microscopia electrónica se encontraron partículas esféricas similares a las de tymovirus. Según Crestani et al (1986), no existen hospederas del PYMV (tymovirus) diferentes al género de *Passiflora* y se transmite solo por el crisomélido *D. speciosa*.

Sin embargo, Fribourg et al (1987), encontró a *Physalis floridana* como una especie indicadora hospedante de un tobamovirus del maracuyá en Perú, que difiere del tymovirus por la forma y tamaño de las partículas.

CONCLUSIONES

- El trabajo de reconocimiento permitió determinar que la mayoría de las zonas productoras de maracuyá se encuentran afectadas por patógenos virales. El potyvirus (cepa SMV) fue el de mayor distribución y diseminación. La mayor disemina-

ción de la enfermedad en el campo según investigaciones realizadas puede estar asociada por la transmisión mecánica a través de la herramienta no desinfectada que se utiliza en las podas de formación y mantenimiento, y posiblemente en el material de propagación.

- La mayor fuente de inoculo puede estar representada en passifloras cultivadas y otras especies silvestres a partir de las cuales puede diseminarse por áfidos.
- El diagnóstico se puede hacer de una forma rápida por medio de serología ya que se cuenta con los antisueros específicos para el potyvirus y tymovirus del maracuyá o mediante las plantas indicadoras como algunas variedades de frijol y solanáceas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los Ingenieros Gustavo Trochez y Fabian Viafara por la consecución de algunas Passifloras silvestres utilizadas en este estudio, a los investigadores de la Unidad de Virología del CIAT, a los profesionales y auxiliares del Laboratorio de Diagnóstico y Vigilancia Fitosanitaria del Instituto Colombiano Agropecuario I.C.A. y CORPOICA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Benschler, D. ; Pappu, S.S. ; Niblett, C.L. ; Varón de Agudelo, F. ; Morales, F. ; Hodson, E. ; Alvarez, E. ; Acosta, O. ; and Lee, R.F. 1996. A strain of soybean mosaic virus infecting *Passiflora* spp. in Colombia. *Plant. Dis.* 80 :258-262.
- Chagas, C.M. ; Kitajima, E.W. ; Lin, M.T. ; Gama, I.C.S.M. & Amashiro, T.Y. 1981. Grave Molestia em marauja Amarelo (*Passiflora edulis* F. *Flavicarpa* deg) no estado da Bahia causada por um isolado do virus do "woodiness" do maracuja. *Fitopatologia Brasileira* 6 : 259-268.
- Chagas, C.M. ; Joazeiro, P.P. ; Kudamatsu, M. ; & Vega, J. 1984. Mosaico de maracuja roxo, uma nova virose no Brazil. *Fitopatol. Bras.* 9 : 241-247.
- Chang, C.A. 1992. Characterization and comparison of passion fruit mottle virus, a newly recognized potyvirus, with passion fruit woodiness virus. *Phytopathology* 82 : 1358-1363.
- Colariccio, C.M. ; Chagas, C.M. ; Mizuki, M.K. ; Vega, J. & Cereda, E. 1987. Infecção natural do maracujá amarelo pelo virus do mosaico do pepino no Estado de São Paulo. *Fitopatol. Bras.* 12 : 254-257.
- Crestani, O.A. ; Kitajima, E.W. ; Lin, M.T. and Marinho, V.L.A. 1986. Passion fruit yellow mosaic virus, a new tymovirus found in Brazil. *Phytopathology* 76 : 951-955.
- Fribourg, C.E. ; Koenig, R. and Leseman, D.E. 1987. A new tobamovirus from *Passiflora edulis* in Peru. *Phytopathology* 77 : 486-491.
- Jan, F.J., y Yeh, S.D. 1995. Purification, in situ localization, and comparative serological properties of passionfruit woodiness virus-encoded amorphous inclusion protein and two other virus proteins. *Phytopathology* 85:64-71.
- Kitajima, E.W. & Crestani, O.A. 1985. Association of a rhabdovirus with passionfruit vein cleaving in Brazil. *Fitopatol. Bras.* 10 : 681-688.
- Kitajima, E.W. ; Chagas, C.M. & Crestani, O.A. 1986. Enfermedades de etiología e asociadas a organismos do tipo micoplasma em maracujazeiros no Brazil. *Fitopatol. Bras.* 11 : 409-432.
- Koenig, R. and Fribourg, C.E. 1986. Natural Occurrence of Tomato Ringspot virus in *Passiflora edulis* from Perú. *Plant Dis.* 70 : 244-245.
- Pares, R.D., Gunn, L.V., Keskula, E.N., Martin, A.B. and Teakle, D.S. 1997. Occurrence of passiflora latent carlavirus in cultivated and wild *Passifloras* species in Australia. *Plant Dis.* 81:348-350.
- St Hill, A.A., Zettler, F.W., Elliot, M.S., Petersen, M.A., Li, R.H., and Bird, J. 1992. Presence of passiflora latent virus and serologically distinct strain of maracuja mosaic virus in *passiflora* spp. in Florida. *Plant Dis.* 76:843-847.
- Sinclair, J.B. 1982. *Compendium of Soybean Diseases*. Second Edition. 104 p.
- Varón de Agudelo, F. ; Castaño, M. ; Arroyave, J.A. ; Velasco, A.C. ; Villaume, C. & Morales, F.J. 1992. Complejo viral que afectan plantaciones de Maracuyá (*Passiflora edulis* SIMS) en el Valle del Cauca. *Fruits*. Vol. 47 (2) 321-329.

Reprinted with permission from ASCOLFI. Originally published in *Fitopatología Colombiana* 23(2):24-31, Copyright 1999.