

Comparación del porcentaje de vectores virulíferos (*Tagosodes orizicolus*) (Muir) [Homóptera: Delphacidae] en el campo con el porcentaje de insectos con capacidad genética de transmitir el virus de la hoja blanca en zonas arroceras de Colombia

· Luis Antonio Reyes¹, Craig Yencho², Ana Cecilia Velasco³, Lee Calvert

La incidencia del virus de la hoja blanca (VHB) se está incrementando en Colombia. La habilidad de *T. Orizicolus* de transmitir el virus es una característica controlada genéticamente. En condiciones de campo, normalmente, menos del 2% de la población son vectores virulíferos. En una población de *T. orizicolus* existen: insectos con capacidad genética de transmitir el virus (VVG), e insectos no vectores. Los VVG se subdividen en: vectores virulíferos y vectores no virulíferos (potenciales). Debido a que en la naturaleza existen muchos factores que influyen el porcentaje de insectos vectores de *T. orizicolus*, este estudio se realizó para determinar el porcentaje de insectos que tienen la capacidad genética de transmitir el VHB.

La metodología consistió en recolectar ninfas de *T. orizicolus* de campos arroceras de Colombia. Las ninfas eran colocadas sobre plantas infectadas por tres días y cada insecto fue transferido a una planta sana de arroz. El tamaño de la muestra fue de 180 insectos. El número de insectos virulíferos fue determinado por ELISA, y la habilidad de transmitir el VHB por ensayo en plantas. En los mismos lotes donde se recolectaron ninfas en campo para la detección de VVG se recolectó insectos adultos para evaluarlos por ELISA y determinar el porcentaje de insectos virulíferos de campo (VVC).

Se presentó una alta correlación entre la habilidad del insecto para replicar el virus y la capacidad para transmitir el virus. El porcentaje de VVG fue siempre mayor que el porcentaje de VVC. El valor más alto de plantas infectadas fue de 10%, lo cual no es suficiente para que todos los insectos con capacidad genética sean vectores. Estos datos confirman que los resultados también indican que existen poblaciones de insectos con capacidad genética de transmitir el VHB hasta un 21%, lo cual supera los niveles de vectores virulíferos reportados en epidemias anteriores.

Entendiendo la relación entre la población de insectos, el número total de vectores potenciales, el número de vectores virulíferos y la incidencia de VHB en campo es un trabajo complejo que nos permitiera avisar tempranamente a los agricultores del riesgo de brotes de VHB, lo cual es esencial para diseñar estrategias de MIP más efectivas.



¹ Ing. Agr. Msc. Fedearroz, c/o CIAT, A.A. 6713, Cali, Colombia

² PhD. Entomología, North Carolina State University, USA

³ Bacterióloga, CIAT, A.A. 6713, Cali, Colombia

Comparación del porcentaje de vectores virulíferos (*Tagosodes orizicolus*) (Muir) [Homóptera: Delphacidae] en el campo con el porcentaje de insectos con capacidad genética de transmitir el virus de la hoja blanca en zonas arroceras de Colombia

Luis Antonio Reyes¹, Craig Yencho², Ana Cecilia Velasco³, Lee Calvert⁴

Introducción

El insecto *Tagosodes orizicolus* (Muir) es el vector del virus de la hoja blanca del arroz (VHB), el cual ha ocasionado grandes pérdidas económicas en América Latina (Zeigler y Morales 1990). Se han reportado epidemias de VHB aproximadamente cada 10 -15 años y luego la enfermedad virtualmente desaparece (Zeigler et al. 1994). La última epidemia de VHB en Colombia fue en 1982, alcanzando pérdidas hasta de 100% (Vargas 1985; Varon et al. 1987; Vergel et al. 1993).

El VHB es transmitido por el insecto de una manera persistente propagativa y pasa transováricamente a la progenie (Morales y Niessen, 1985; Galvez 1968; Zeigler et al. 1994). Además, el virus causa un efecto deletéreo en insectos virulíferos, los cuales sobreviven menos que insectos libres de virus (Jennings y Pineda 1971). Se piensa que el efecto que el virus causa en el insecto junto con la lenta multiplicación de plantas infectadas en el campo son los responsables por la naturaleza cíclica de la enfermedad.

Los mecanismos de transmisión del virus al insecto son por alimentación directa sobre plantas enfermas y transováricamente (insecto-insecto) (Zeigler y Morales 1990). Cuando el virus es adquirido de plantas enfermas, el período promedio de incubación en el insecto vector antes de la transmisión es de 20 a 25 días, sin embargo, cuando el virus es adquirido transováricamente puede ser transmitido en los primeros instares ninfales (Zeigler et al. 1994).

No todos los insectos tienen la capacidad de transmitir el VHB pues ello depende de un único gen recesivo (Zeigler y Morales 1990). En condiciones de campo, normalmente, menos del 2% de la población son vectores virulíferos. De acuerdo con esta habilidad, en una población dada de *T. orizicolus* (Muir), existen: insectos con capacidad genética de transmitir el virus, e insectos no vectores que no transmiten el virus aún después de que éste sea adquirido por alimentación y tenga un suficiente período de incubación. Los insectos con capacidad genética de transmitir el virus se subdividen en: vectores virulíferos (activos), los cuales transmiten el virus activamente en el campo (CIAT 1986) y vectores no virulíferos (potenciales) los cuales después de adquirir el virus por alimentación y un suficiente período de incubación, pueden transmitirlo a las plantas o a sus descendientes (Zeigler y Morales 1990; CIAT 1982; CIAT 1985). En esta investigación se realizó un procedimiento que mostró que todos los insectos que tienen la capacidad genética de transmitir el virus son vectores. Lo anterior significa que tanto vectores virulíferos (activos) como vectores no virulíferos (potenciales), se calculan conjuntamente en vectores virulíferos genéticos (VVG), indicando de una manera más precisa el riesgo temprano de una epidemia de VHB.

Experiencias de epidemias anteriores reportan que un 12-15% de "vectores virulíferos" son suficientes para iniciar una epidemia (Galvez 1968; CIAT 1982). Actualmente se desconoce el porcentaje de estos vectores, por lo que es necesario obtener mayor información para predecir este riesgo. El objetivo de este trabajo es determinar el porcentaje de vectores con capacidad genética de transmitir el virus de las zonas arroceras del país y establecer la tendencia de estos durante las diferentes épocas del año.

Materiales y Métodos

¹ Ing. Agr. Msc. Fedearroz, c/o CIAT, A.A. 6713, Cali, Colombia

² Ph.D. Entomología, North Caroline State University, USA

³ Bacterióloga, CIAT, A.A. 6713, Cali, Colombia

⁴ Ph.D. Virología, CIAT, A.A. 6713, Cali, Colombia

040254

28 ENE. 1999

Inóculo de Hoja Blanca. Plantas sanas de la variedad Bluebonnet 50 susceptible a VHB fueron multiplicadas en potes de 10 cm de diámetro en los invernaderos del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira, Colombia. Cuando las plantas estaban entre 15-20 días después de emergencia fueron transferidas a jaulas e inoculadas con 8-10 ninfas virulíferas por planta, provenientes de la colonia vectora del CIAT, con un porcentaje de vectores activos mayor del 70%. Aproximadamente 5 días después de la inoculación, las plantas fueron tratadas con insecticida o lavadas con agua para matar los insectos. A los 15-20 días después de haber removido los insectos, se seleccionaron las plantas que presentaron síntomas de VHB, para utilizarlas como fuente de inóculo de las ninfas que fueron recolectadas en el campo.

Detección de Vectores Virulíferos Genéticos (VVG). Poblaciones de ninfas de *T. orizicolus* de primero a cuarto instar fueron recolectadas en lotes de 30 a 35 días de edad, en cuatro zonas arroceras del país (aproximadamente 1000 ninfas por zona); se alimentaron sobre plantas con VHB por tres días y después los insectos individuales fueron transferidos a plantas sanas de 10 a 15 días de edad dentro de tubos de acetato cubiertos con una tela fina de nylon. Los insectos permanecieron individualmente en plantas sanas de la variedad susceptible Bluebonnet 50 por 21 días (Figura 1). El número promedio de insectos analizados por muestra fue de 180. Cada ninfa y planta fueron identificadas con un número hasta el final de la prueba.

El porcentaje de VVG se determinó mediante la transmisión directa del VHB a plantas sanas, contando el número de éstas que presentaban síntomas de la enfermedad después de 15 días de retirados los insectos. Además, la presencia de VHB se corroboró en los insectos, por medio de la prueba serológica inmunoenzimática de doble emparejado de anticuerpos (DAS-ELISA) (Clark y Adams 1977)

Detección de Vectores Virulíferos de Campo (VVC). Simultáneamente a la recolección de las ninfas en el campo para la detección de VVG, también se recolectaron 180 insectos adultos de *T. orizicolus* para ser evaluados contra VHB por DAS-ELISA y determinar el porcentaje de VVC en cada zona.

Determinación de VHB. La presencia del virus tanto en plantas como en insectos se comprobó con DAS-ELISA. Para realizar esta prueba, microplatos de poliestireno (Dynatech Laboratorios, Inc.) se cubrieron con la Inmuno-globulina (Ig) específica al VHB (Morales y Niessen 1983), diluida 1/4000 en tampón carbonato de sodio, pH 9.6 y se incubaron por 4 horas a 37° C. Las muestras homogenizadas en dilución 1/10 con tampón fosfato salino (PBS) mas 0.2% de Tween-20 y 2% de polivinilpirrolidona PM 40.000 (PVP-40) se adicionaron a los platos y se dejaron a 4° C durante toda la noche. El conjugado específico (Ig marcado con la enzima fosfatasa alcalina) se agregó en una dilución 1/4000 con tampón PBS-Tween incubándose a 37° C por 4 horas. La detección del complejo antígeno-anticuerpo-conjugado se realizó utilizando como sustrato de color una solución fresca de p-nitrofenil fosfato (Sigma, Cat. 104-105) a una concentración de 1 mg/ml en tampón de dietanolamina 9.7%, pH 9.8. La reacción colorimétrica resultante fue medida en valores de absorbencia a 405 nm en un espectrofotómetro (Bio-Teck Instruments, Microplate Reader EL 308), a los 30 y 60 minutos, respectivamente, de haberse agregado el sustrato, sin detener la reacción, considerándose como positivos los valores mayores de 0.2. En todos los platos se incluyeron como controles positivos: un insecto vector probado y una muestra de planta con síntomas de VHB; como controles negativos: un insecto sano y una muestra de planta sana y como blanco una muestra del tampón usado para macerar los insectos.

Entre los diferentes pasos del procedimiento, los platos se lavaron con el tampón PBS-Tween durante tres minutos por tres veces y se adicionaron volúmenes de 100 microlitros por pozo de cada solución. Para el análisis estadístico se utilizaron como mínimo 180 insectos por cada localidad. La comparación entre localidades fue determinada mediante el análisis de Chi-cuadrado en tablas de contingencia de 2x2, probabilidad de 0.05%.

Evaluación del Porcentaje de Incidencia de VHB en Campo (ICHB). Ingenieros Agrónomos de la Federación Nacional de Arroceros visitaron los mismos lotes donde anteriormente se habían recolectados los insectos para la detección de VVG y VVC (aproximadamente entre 60 a 80 días de edad del cultivo), para evaluar la ICHB de la siguiente manera: se tomaron 10 puntos al azar dentro de cada lote, lanzando un marco de PVC de 0.5 m² y en cada uno de estos puntos se contó el número de macollas con VHB y el número de macollas totales y se calculó el porcentaje de incidencia con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ VHB} = (\text{No. macollas con VHB} / \text{No. total de macollas}) \times 100.$$

Resultados y Discusión

Detección de Vectores Virulíferos Genéticos . Después de alimentar forzosamente las ninfas de *T. orizicolus* por tres días en plantas con VHB y ser transferidas por 21 días sobre plantas sanas, los insectos que transmitieron el VHB a las plantas y fueron positivos por la prueba de DAS-ELISA se denominaron Vectores Virulíferos Genéticos (VVG).

Los insectos adultos de *T. orizicolus* que se sometieron a la prueba de DAS-ELISA inmediatamente después de ser recolectados en el campo y fueron positivos se denominaron Vectores Virulíferos de Campo (VVC).

Se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de VVG, porcentaje de VVC y ICHB entre las diferentes zonas (Tabla 1). Las zonas de Valle (Jamundí) y Tolima (Saldaña) presentaron porcentajes bajos de ICHB, posiblemente debido a baja virulencia de los VVC (1.1 y 1.6% respectivamente). La zona de Cesar (Valledupar), por el contrario, presentó un porcentaje de VVC alto (5.3%) y una ICHB baja (0.9%), posiblemente debido a un conteo temprano de plantas enfermas, sin permitir un lapso de 30-40 días para observar los síntomas de VHB o a un número menor de insectos por 10 pases dobles de jama (PDJ) (Tabla 1).

Las zonas de Meta (Castilla - var. Caribe 8), Meta (Castilla - var. Oryzica 1) y Tolima (Ambalema - var. Oryzica 1) presentaron los valores más altos de VVC (5.1%, 9.3% y 8.3%, respectivamente), estadísticamente similares y sin embargo se presentaron diferencias significativas en los valores de ICHB (17.3%, 6.3% y 10.0%, respectivamente) (Tabla 1). Estas inconsistencias en la ICHB pueden ser explicadas por varios factores: monocultivo de una sola variedad, migración de insectos entre variedades susceptibles y resistentes de áreas anexas, manejo del cultivo, condiciones ambientales, número de insectos por PDJ, etc. Por ejemplo, en la zona de Cesar el 90 % del área es sembrada durante todo el año con la variedad Oryzica 1 tolerante al VHB, mientras que en el Meta y Tolima, variedades susceptibles y resistentes se siembran en el mismo semestre (Cica 8, Oryzica Caribe 8, Oryzica 1, Oryzica Yacu 9, Selecta 320). Los resultados anteriormente expuestos sugieren que es importante considerar el manejo de las variedades a sembrar en las diferentes zonas arroceras, según el comportamiento de las poblaciones de *T. orizicolus* en campo.

En Valle (Jamundí - var. Selecta 320) y Tolima (Saldaña - var. Oryzica 1) se presentaron los menores porcentajes de plantas enfermas y VVG de todas las áreas arroceras muestreadas (Tabla 1), debido posiblemente a las variedades sembradas y a los bajos porcentajes de VVC encontrados, sugiriendo que el riesgo de una epidemia de VHB en estas zonas es más bajo que en las demás zonas arroceras del país. Por otra parte, en Cesar-Valledupar que presentó bajos porcentajes de plantas enfermas y porcentajes intermedios de VVC y VVG, se mantiene el riesgo de una epidemia si se incrementa el área de siembra con variedades susceptibles al VHB.

En Tolima-Ambalema y Meta-Castilla (Figura 2) se presentaron valores de VVC (9.3 % y 8.3%) cercanos a los reportados en epidemias anteriores (12 a 15%), como también los valores mas altos de VVG de todas las zonas arroceras del país (16.7% y 21%, respectivamente). Lo anterior indica que estas áreas presentan un alto riesgo de desarrollar epidemias localizadas si se continúan sembrando materiales susceptibles al VHB y deben ser consideradas como "focos de alto nivel de hoja blanca".

El porcentaje de VVG fue siempre mayor que el porcentaje de VVC en todas las zonas arroceras muestreadas (Figura 2). El análisis de correlación lineal entre %VVG y %VVC reveló una alta asociación ($r = 0.97$, $p = 0.006$) con la ecuación de regresión: $VVG = 2.09 + 1.84 VVC$, siendo adecuada para estimar VVG cuando VVC es menor del 10%. Lo anterior indica que existe una relación directa entre VVC y el número total de insectos que tienen la capacidad genética de transmitir el virus (vectores virulíferos + vectores no virulíferos).

El efecto de la región y variedad sobre el VHB es presentado en la Figura 3. En dos zonas diferentes del Tolima (Saldaña y Ambalema) se presentaron diferencias significativas en el porcentaje de VVC y ICHB.

Estos resultados sugieren que la determinación del porcentaje de VVC depende de la zona donde se realice el muestreo. La determinación del porcentaje de VVC indica la virulencia de los insectos en un momento determinado en una zona, mientras que la determinación del porcentaje de VVG indica la capacidad genética de la población de insectos, la cual no depende de la variedad ni cambia rápidamente en el tiempo. Al determinar la capacidad genética de una población de insectos, se mide la frecuencia de los genes de resistencia de los individuos que son homocigotos recesivos de esa población. Por esta razón, la manera más segura para determinar el riesgo de una epidemia de VHB es determinando el número total de insectos que tienen la capacidad genética de transmitir el VHB. Los resultados también indican que existen poblaciones de insectos con capacidad genética de transmitir el VHB hasta un 21%, lo cual supera los niveles de vectores virulíferos reportados en epidemias anteriores.

Conclusiones

Los resultados anteriores sugieren que entre los muchos factores que predisponen la presencia de una epidemia de VHB, la variedad, el número de *T. orizicolus* y el porcentaje de vectores genéticamente virulíferos juegan un papel importante. Variedades susceptibles como Oryzica Caribe 8 son más severamente afectadas que variedades que presenten tolerancia al virus (Oryzica 1) en campo. La susceptibilidad de las variedades tiene importantes implicaciones epidemiológicas. Si se siembran variedades susceptibles cerca a cultivos establecidos de variedades "resistentes en campo" con altos porcentajes de vectores virulíferos, se puede presentar un alto porcentaje de plantas infectadas en la variedad susceptible.

De acuerdo con la evaluación del porcentaje de vectores virulíferos genéticos se deben planificar acciones específicas dirigidas a cada una de las zonas arroceras del país para reducir el riesgo de epidemias. En zonas donde el porcentaje de vectores virulíferos genéticos sea alto no se deben sembrar variedades susceptibles. El alto porcentaje de vectores virulíferos genéticos en las zonas de Tolima-Ambalema y Meta-Castilla, sugieren que sólo falta una mayor fuente de inóculo para que se inicie una epidemia de VHB.

La determinación del porcentaje de insectos con capacidad genética de transmitir el virus es un aviso temprano del riesgo que tiene un área de presentar una epidemia de VHB, comparándola con otras. Es probable que el incremento actual de virulencia del insecto sea el inicio de una nueva epidemia de VHB en Colombia. Se requiere más información para tener un claro entendimiento de la población de insectos vectores y de los factores que promueven la formación de una epidemia de VHB.

Bibliografía

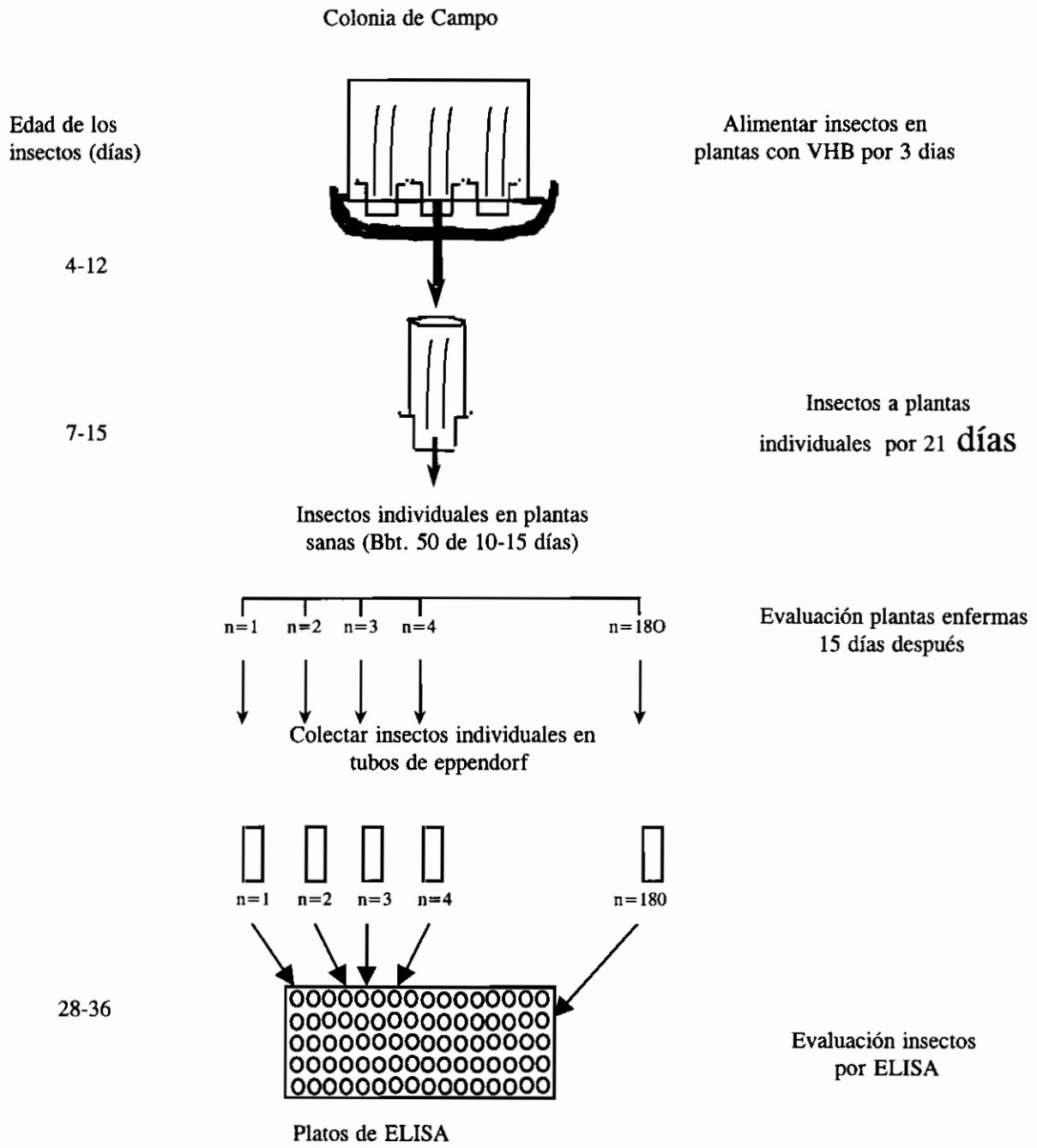
- CIAT 1986. Annual Report Rice Program 1986. Cali Colombia.
- CIAT. 1982. Annual Report Rice Program 1982. Cali Colombia.
- CIAT. 1985. Annual Report Rice Program 1985. Cali Colombia.
- CLARK, M.F.; ADAMS, A.N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology* (Estados Unidos) vol.34, p.475-483.
- GALVEZ, G.E. 1968. Transmission studies of the Hoja Blanca Virus with highly active virus-free colonies of *Sogatodes oryzicola*. *Phytopathology* (Estados Unidos) v.58, p.818-821.
- GALVEZ, G.E. 1968. Transmission of Hoja Blanca Virus. p.155-163. In *The virus disease of rice plant*. Johns Hopkins, Press, Baltimore, Md. (Estados Unidos).
- JENNINGS, P.R.; PINEDA, A. 1971. The effect of the hoja blanca virus on its insect vector. *Phytopathology* (Estados Unidos) v.61, p.142-143.
- MORALES, F.J.; NIESSEN, A. 1985. Rice Hoja Blanca Virus. *Association of Applied Biologist*. Description of plant viruses, No 229. (Estados Unidos).
- VARGAS, J.P. 1985. La Hoja Blanca: Descalabro de la variedad Cica 8. *Arroz*. (Colombia) v.34, p.18-19.
- VARON, F.; GARCIA, F.; ARISTIZABAL, D. 1987. Manejo del complejo Sogata-Hoja Blanca en el Valle del Cauca. Instituto Tecnico Agropecuario, Novedades Tecnicas, Boletin No 5 (Colombia).
- ZEIGLER, R.; MORALES, F.J. 1990. Genetic Determination of Replication of Rice Hoja Blanca Virus within its planthopper vector, *Sogatodes oryzicola*. *Phytopathology* (Estados Unidos) v.80, p.559-566.
- ZEIGLER, R.; PANTOJA, A.; DUQUE, M.C.; WEBER, G. 1994. Characteristics in resistance in rice to rice hoja blanca virus (VHB) and its vector *Tagosodes orizicolus* (Muir). *Ann. appl. Biol.* (Estados Unidos) v.124, p.429-440.
- VERGEL, D.; CUEVAS, F.; CORREA, F. 1993. Genetic Studies of Sources of Resistance to Rice Hoja Blanca Virus, p. 33-35. In *Proceedings of a monitoring tour and workshop on integrated pest management in the caribbean*, Jorge Armenta Soto, Dominican Republic.

TABLA 1. DETERMINACION DE VECTORES DE VHB Y PLANTAS ENFERMAS EN ZONAS ARROCERAS DE COLOMBIA (AÑO 1996)

REGION	ZONA	VARIEDAD	%VECTORES VIRULIFEROS GENETICOS ¹	% PLANTAS ENFERMAS ² INVERNADERO	% VECTORES VIRULIFEROS CAMPO ³	%MACOLLAS ENFERMAS ⁴ (CAMPO)	No. INSECTOS (10 PDJ)
VALLE	JAMUNDI	SELECTA 320	5.9 b ⁵	4.7 b	1.1 c	0.7 d	4250
CESAR	V/UPAR	O. CARIBE 8	9.6 b	9.1 b	5.3 a	0.9 d	4
META	CASTILLA	O. CARIBE 8	N/D ⁶	N/D	5.1 ab	17.3 a	25
META	CASTILLA	ORYZICA 1	21 a	19 a	9.3 a	6.3 c	22
TOLIMA	SALDAÑA	ORYZICA 1	4.4 b	4.3 b	1.6 bc	0.3 d	8
TOLIMA	AMBALEMA	ORYZICA 1	16.7 a	15.3 a	8.3 a	10.0 b	N/D

1. Insectos con capacidad genética de transmitir el VHB en invernadero (activos + potenciales). Prueba de ELISA (180 insectos por localidad/prueba).
2. Determinación visual de plantas con síntomas de VHB en invernadero.
3. Insectos con capacidad genética de transmitir el VHB activamente en campo (activos). Prueba de ELISA (180 insectos por localidad/prueba)
4. Determinación de incidencia de VHB en campo por el método del marco 0.5 x 0.5 m² (promedio de 10 lanzamientos).
5. Porcentajes en las columnas seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes (Análisis de Chi-cuadrado P= 0.05%).
6. N/D No Determinado.

Figura 1. Determinación de insectos con capacidad genética de transmitir el VHB.



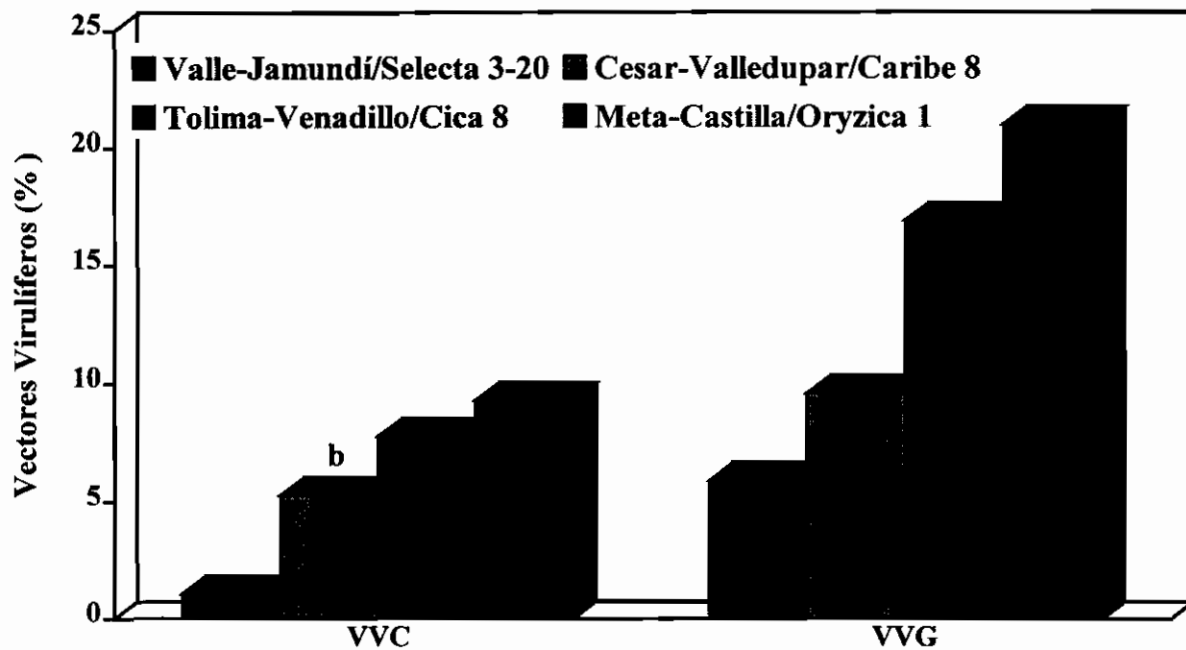


Fig. 2. Determinación de Vectores Virulíferos de VHB en Zonas Arroceras de Colombia.

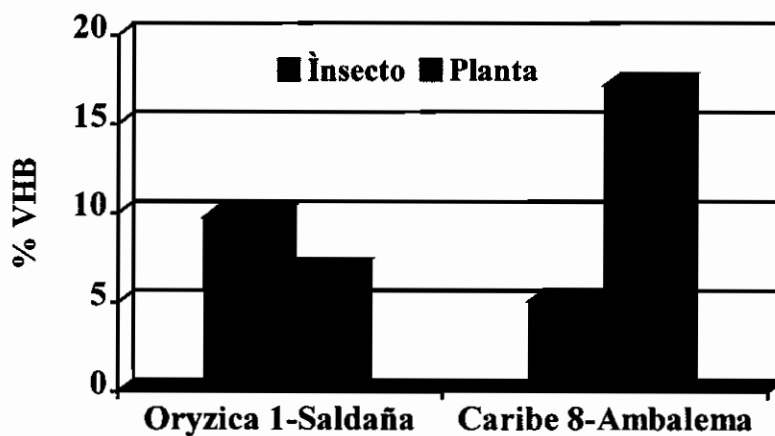


Fig. 3. Comparación de variedades y regiones al VHB en campo

Monitoreo de *Tagosodes orizicolus* (sogata) en zonas arroceras de Colombia.

Luis Antonio Reyes¹, Lee Calvert², AnaCecilia Velazco³.

El insecto *Tagosodes orizicolus* (Sogata), vector del virus de la hoja blanca (VHB) se está presentando en los últimos años como un peligro potencial en el cultivo del arroz. En áreas afectadas con bajos niveles de VHB se efectúan aplicaciones preventivas de pesticidas sin ningún conocimiento tanto de la virulencia del insecto como de la incidencia de VHB. Teniendo en cuenta la importancia de la enfermedad y las altas pérdidas económicas que ocasiona, FEDEARROZ, CIAT y CORPOICA conjuntamente iniciaron un proyecto financiado por COLCIENCIAS para disminuir las pérdidas causadas por las epidemias recurrentes de VHB. Lo anterior, con el fin de alertar a agricultores de áreas que presenten altos porcentajes de virulencia y que estén en riesgo de presentar brotes repentinos de VHB para que efectúen un Manejo Integrado de plagas.

Para la recolección de las muestras de insectos el país se dividió en cuatro zonas: Centro (Tolima y Huila), Meta, Caribe Seco y Caribe Húmedo. En cada una de estas zonas, Ingenieros Agrónomos de FEDEARROZ y CORPOICA visitan lotes de 35 a 45 días después de emergencia (dde), donde se recolectan 180 insectos adultos de sogata que se envían al CIAT, para ser evaluados contra VHB por la técnica de ELISA, y determinar el porcentaje de vectores virulíferos en cada zona. Para el análisis estadístico se utilizaron como mínimo 180 insectos por cada localidad.

Durante 1997 se analizaron 104 muestras de sogata para determinar el porcentaje de vectores virulíferos de las diferentes zonas. En el Caribe Húmedo el porcentaje promedio de vectores fue de 7.4 %. La zona central, que incluye los departamentos de Tolima y Huila, presenta un incremento constante en el porcentaje de vectores. Huila pasó de 0.5% en el 95 a 2% en el 97, Tolima incremento de 2% en el 95 a 5.5 % de vectores en el 97. Existe gran cantidad de información de esta zona y se considera que el virus prevalece a través del Tollina. Meta pasó de un 6.5 % en 96 a un 2.5% en el 97. Caribe Seco pasó de 1.5% en el 96A a 2.5% en el 96B. En Caribe Húmedo el porcentaje promedio pasó de un 2% en el 96 a un 7.4% en el 97. En esta zona, también se presentaron porcentajes hasta un 20% indicando que se están presentando brotes localizados de VHB.

La divulgación de estos resultados por medio de boletines y charlas técnicas ha permitido realizar estrategias de control del insecto vector y de esta manera disminuir considerablemente las pérdidas de los agricultores.

¹ Ing. Agr. Msc. Fedearroz c/o CIAT, A.A. 6713, Cali-Colombia

² PhD. Virología, CIAT, A.A. 6713, Cali-Colombia

³ Bacterióloga, CIAT, A.A. 6713, Cali-Colombia

Monitoreo de *Tagosodes orizicolus* (sogata) en zonas arroceras de Colombia.

Luis Antonio Reyes¹, Lee Calvert², AnaCecilia Velazco³.

INTRODUCCION

El insecto *Tagosodes orizicolus* (Sogata), vector del virus de la hoja blanca (VHB) se está presentando en los últimos años como un peligro potencial en el cultivo del arroz, debido a altas poblaciones y altos porcentajes de virulencia en ciertas áreas del país. Hasta la fecha, las técnicas usadas para el control del VHB son: uso de variedades resistentes y aplicación de insecticidas. Actualmente se presenta un incremento en el uso de insecticidas para el control de sogata. En áreas afectadas con bajos niveles de VHB se efectúan aplicaciones preventivas sin ningún conocimiento tanto de la virulencia del insecto como de la incidencia de VHB. Esto ha ocasionado adaptación de poblaciones del insecto a los insecticidas.

En 1982 se presentó la última epidemia de VHB en Colombia causando pérdidas en rendimiento entre un 25 a un 75%. A finales de 1995 nuevamente los agricultores de las zonas arroceras del país empezaron a observar en sus cultivos plantas con síntomas del virus. Teniendo en cuenta la importancia de la enfermedad, ya que se presenta cada 12 a 15 años y las altas pérdidas económicas ocasionadas por la epidemia del 82, FEDEARROZ, CIAT y CORPOICA conjuntamente iniciaron un proyecto financiado por COLCIENCIAS para disminuir las pérdidas causadas por las epidemias recurrentes de VHB.

Entre las actividades que desarrolla este proyecto, se efectúa en Colombia un monitoreo de sogata donde se determina la virulencia del insecto. Lo anterior, con el fin de alertar a agricultores de áreas que presenten porcentajes altos de virulencia y que estén en riesgo de presentar brotes repentinos de VHB para efectuar un Manejo Integrado del Plagas.

MATERIALES Y METODOS

Para la recolección de las muestras de insectos el país se dividió en cuatro zonas: Centro (Tolima y Huila), Meta, Caribe Seco y Caribe Húmedo. En cada una de estas zonas, Ingenieros Agrónomos de FEDEARROZ y CORPOICA visitan lotes de 35 a 45 días después de emergencia (dde), donde se recolectan 180 insectos adultos de sogata que se envían al CIAT, para ser evaluados contra VHB por la técnica de ELISA, y determinar el porcentaje de vectores virulíferos en cada zona.

La presencia del virus en insectos se comprobó con DAS-ELISA. Para realizar esta prueba, microplatos de poliestireno (Dynatech Laboratores, Inc.) se cubrieron con la Inmuno-globulina (Ig) específica al VHB (Morales y Niessen 1983), diluida 1/4000 en tampón carbonato de sodio, pH 9.6 y se incubaron por 4 horas a 37° C. Las muestras homogenizadas en dilución 1/10 con tampón fosfato salino (PBS) mas 0.2% de Tween-20 y 2% de polivinilpirrolidona PM 40.000 (PVP-40) se adicionaron a los platos y se dejaron a 4° C durante toda la noche. El conjugado específico (Ig marcado con la enzima fosfatasa alcalina) se agregó en una dilución 1/4000 con tampón PBS-Tween incubándose a 37° C por 4 horas. La detección del complejo antígeno-anticuerpo-conjugado se realizó utilizando como sustrato de color una solución fresca de p-nitrofenil fosfato (Sigma, Cat. 104-105) a una concentración de 1 mg/ml en tampón de dietanolamina 9.7%, pH 9.8. La reacción colorimétrica resultante fue medida en valores de absorbencia a 405 nm en un espectofotómetro (Bio-Teck Instruments, Microplate Reader EL 308), a los 30 y 60 minutos, respectivamente, de haberse agregado el sustrato, sin detener la reacción, considerándose como positivos los valores mayores de 0.2. En todos los platos se incluyeron como controles positivos: un insecto vector probado y una muestra de planta con

¹ Ing. Agr. Msc. Fedearroz c/o CIAT, A.A. 6713, Cali-Colombia

² PhD. Virología, CIAT, A.A. 6713, Cali-Colombia

³ Bacteriologa, CIAT, A.A. 6713, Cali-Colombia

síntomas de VHB; como controles negativos: un insecto sano y una muestra de planta sana y como blanco una muestra del tampón usado para macerar los insectos. Entre los diferentes pasos del procedimiento, los platos se lavaron con el tampón PBS-Tween durante tres minutos por tres veces y se adicionaron volúmenes de 100 microlitros por pozo de cada solución. Para el análisis estadístico se utilizaron como mínimo 180 insectos por cada localidad.

RESULTADOS Y DISCUSION

Durante el año de 1997 se analizaron 104 muestras de sogata para determinar el porcentaje de insectos virulíferos en el país. La zona central, que incluye los departamentos de Tolima y Huila, continúa presentando un incremento constante en el porcentaje de vectores (Fig. 1). Huila pasó de 0.5% en el 95 a 2% en el 97, éste aún es un nivel muy bajo de vectores y no se ha hecho ninguna recomendación de control

Tolima ha incrementado de 2% en el 95 a 5.5 % de vectores en el 97. Existe gran cantidad de información de esta zona y se considera que el virus prevalece a través del Tolima, especialmente en la parte norte, sin embargo también se está observando un incremento notable en la parte sur (Fig. 1). En esta zona se ha recomendado diversificar variedades, y controlar las poblaciones del insecto vector con la aplicación de insecticidas de bajo impacto ambiental.

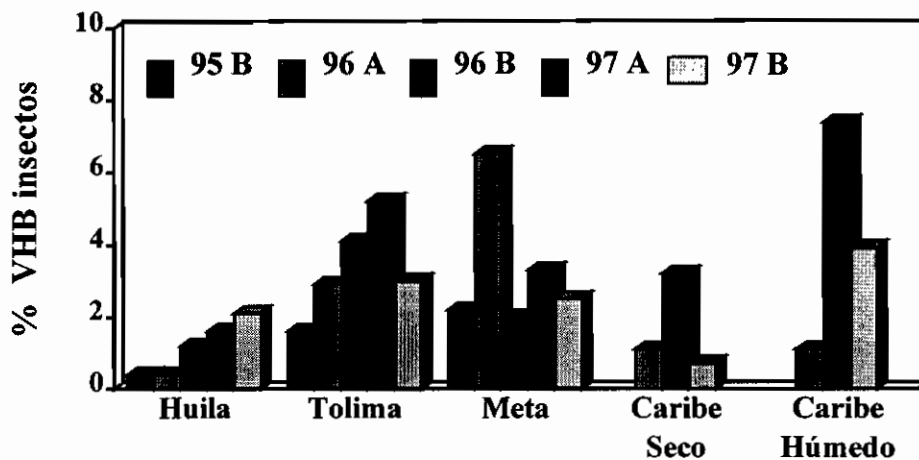


Fig. 1 Monitoreo de insectos en zonas arroceras de Colombia

La zona de Meta pasó de un 6.5 % en 96 a un 2.5% en el 97 (Fig. 1). Esta reducción en el nivel de vectores se debe a la diversificación de variedades en la zona como también a altas lluvias presentes a finales del 96 y comienzos del 97, que disminuyeron notablemente la población de insectos. Sin embargo, no se puede descartar que con la presencia del fenómeno del Niño, es probable que se presenten altas poblaciones del insecto y se encuentren focos localizados de VHB.

La zona de Caribe Seco pasó de 1.5% en el 96 A a 2.5% en el 96 B (Fig. 1). Con estos bajos porcentajes de virulencia no se han realizado recomendaciones de control. Sin embargo, en el Norte de Santander (Caribe Seco) durante los últimos meses del 97 se han reportado altas poblaciones de sogata, por lo cual se debe tener cuidado en la utilización de insecticidas. Si los insecticidas no son usados dentro de un manejo integrado de plagas, éstos pueden llevar aún a mayores poblaciones del insecto.

Durante 1997 se presentó un incremento de vectores en la zona del Caribe Húmedo (Fig. 1). El porcentaje promedio pasó de un 2% en el 96 a un 7.4% en el 97. En esta zona, también se presentaron porcentajes hasta un 20% indicando que se están presentando brotes localizados

de VHB. Se requieren aún mas muestras de esta zona para determinar que tan diseminados están estos altos porcentajes de vectores.

En la toma de una decisión de control, se debe tener en cuenta la variedad (variedades resistentes se debe controlar el insecto vector en los primeros 25 dde, variedades susceptibles durante los primeros 50 dde), población de insectos virulíferos, condiciones ambientales y población de enemigos naturales. En la interpretación de los porcentajes de virulencia se han establecido los siguientes niveles de riesgo:

% virulencia insecto	Riesgo	Variedad Recomendada
< 2%	Bajo	Cualquiera
2 - 6%	Medio	Resistente
> 6%	Alto	Resistente

Con el conocimiento del porcentaje de virulencia y los niveles de riesgo se pueden planificar acciones adecuadas, como es la selección de la variedad para las futuras siembras. Hasta que no se obtengan variedades comerciales que presenten altos niveles de resistencia tanto al virus como al insecto, se necesita un cuidado especial en áreas con altos porcentajes de virulencia.

Conclusiones:

En general el nivel del virus se está incrementando, pero no a un valor epidémico.

La zona del Caribe Húmedo es considerada en alto riesgo de presentar brotes de VHB localizados.

En el país la población de sogata está siendo controlada con el uso de insecticidas. Sin embargo, son necesarias prácticas de Manejo Integrado de Plagas para reducir el riesgo de resistencia del insecto a los insecticidas.

La divulgación de estos resultados por medio de boletines y charlas técnicas ha permitido realizar estrategias de control del insecto vector y de esta manera disminuir considerablemente las pérdidas de los agricultores.

BIBLIOGRAFIA

Clark, M.F. Adams, A.N., 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology* 34: 475-483.

Garces-Orejuela, C., Jennings, P.R., & Skiles, R.L. 1958. Hoja blanca of rice and the history of the disease in Colombia. *Plant Disease Reporter* 42: 750-751.

Morales, F. J. and Niessen, A. 1985. Rice hoja blanca virus. *AAB Descriptions of Plant Viruses* . No. 299.

Vargas, J.P. (1985). La hoja blanca: descalabro de CICA-8 Arroz, *Bogata Colombia* 34: 18-19.