

**IDENTIFICACION DE CICADELIDOS (HOMOPTERA: CICADELLIDAE)
VECTORES DE POTYVIRUS EN ÑAME *Dioscorea alata* cv. "oso" EN
ALGUNAS REGIONES DEL DEPARTAMENTO DE SUCRE**

**LILÍAN KARÍN BARBOZA NOVOA
SANDRA MARIA DIAZ SANTOS**

**UNIVERSIDAD DE SUCRE
FACULTAD DE EDUCACION Y CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
SINCELEJO
2004**

**IDENTIFICACION DE CICADELIDOS (HOMOPTERA: CICADELLIDAE)
VECTORES DE POTYVIRUS EN ÑAME *Dioscorea alata* cv. "oso" EN
ALGUNAS REGIONES DEL DEPARTAMENTO DE SUCRE**

**LILÍAN KARÍN BARBOZA NOVOA
SANDRA MARIA DIAZ SANTOS**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de
Biólogo con énfasis en Biotecnología**

**Director
JAVIER DARÍO BELTRÁN, Ph. D**

**Codirector
ANTONIO MARIA PÉREZ, MSc**

**UNIVERSIDAD DE SUCRE
FACULTAD DE EDUCACION Y CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
SINCELEJO
2004**

NOTA DE ACEPTACIÓN

Presidente del jurado

Jurado

Jurado

Sincelejo, Diciembre 9 de 2004

**Solo los autores son responsables de las ideas expuestas en el presente
trabajo**

Artículo 12, ley 23 / 2000

DEDICATORIA

A Dios, fuente inagotable de todo conocimiento, quien con su fortaleza, luz y amor llena cada día mi vida de esperanza.

A mis padres, Pedro Barboza (Q.E.P.D) y Olga Novoa, quienes con su apoyo incondicional, constante, lleno de amor y comprensión ayudaron a hacer realidad este sueño.

A mis hermanos, motivación y apoyo en mis planes y proyectos.

A mis amigos y compañeros, consejeros de camino.

Lilián Karín Barboza Novoa.

A Dios, padre celestial, mi gran amigo, quien permitió que este proyecto se llevara a feliz termino.

A mis padres, Juan Díaz (Q.E.P.D) y Luz Santos, quienes confiaron en mí en todo momento y me brindaron su apoyo incondicional.

A mis hermanos y demás familiares quienes me tendieron la mano y de alguna manera contribuyeron con este logro.

A mis amigos y compañeros, por su colaboración y apoyo desinteresado.

Sandra María Díaz Santos.

AGRADECIMIENTOS

LOS AUTORES EXPRESAN SUS AGRADECIMIENTOS A:

A DIOS, por ser nuestro guía, nuestra luz, esperanza y salvación en cada momento de nuestras vidas.

Al doctor JAVIER DARÍO BELTRÁN ph.D en fitopatología y al profesor ANTONIO MARÍA PÉREZ MSc en entomología, por sus orientaciones, colaboración y tiempo dedicado en la realización de este proyecto de investigación.

A la UNIVERSIDAD DE SUCRE, por brindarnos la oportunidad de alcanzar esta meta.

A los docentes: JUAN MANUEL DÍAZ, PEDRO BLANCO TUIRAN, ALCIDES SAMPEDRO, DARY LUZ MENDOZA, RITA LUZ MARQUEZ, SANTIAGO RUÍZ y ADOLFO CONSUEGRA, por contribuir en nuestra formación intelectual y personal.

Al proyecto de ñame por colaborarnos con materiales necesarios para la realización de este proyecto de investigación.

Al doctor PEDRO BLANCO TUIRÁN, por facilitar el uso del lector de ELISA en el centro de diagnostico medico de la Universidad de Sucre.

A los señores HIDALDO ARRIETA, ABEL MERCADO, MANUEL MERCADO, PLINIO ACOSTA y CRISTIAN BELTRÁN, por permitirnos el acceso a sus cultivos.

Al profesor SEGUNDO SANDOVAL ASSIA, por brindarnos su valiosa colaboración.

A MARIO MAESTRE, ROCÍO PAYARES, ARTURO DONCEL, RAFAEL ORTEGA, por colaboración y apoyo desinteresado.

A nuestros compañeros y amigos, PAOLA PEREIRA, BEATRIZ BELTRÁN, EMBER ARIAS, LUIS TOVIO, ANA ESCAMILLA, EDUARDO HERNÁNDEZ Y GUSTAVO.

A todas y cada una de las personas que, de una u otra forma contribuyeron en la realización de este trabajo.

CONTENIDO

	Pág
RESUMEN	14
SUMMARY	15
INTRODUCCIÓN	16
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
2. OBJETIVOS	19
2.1 OBJETIVO GENERAL	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3. JUSTIFICACIÓN	20
4. MARCO REFERENCIAL	21
4.1 ASPECTOS GENERALES DEL CULTIVO DE ÑAME	21
4.1.1 Taxonomía	22
4.1.2 Descripción botánica	22
4.2 PRINCIPALES ENFERMEDADES DEL ÑAME	23
4.2.1 Enfermedades vírales	24
4.2.1.1 Mosaico	24
4.2.1.2 Moteado	24
4.2.1.3 Decoloración de las venas	25
4.2.1.4 Aclaramiento de las nervaduras	25
4.2.1.5 Amarillamiento	25
4.2.2 Virus que infectan al ñame	26
4.2.2.1 Potyvirus	26

4.2.2.1.1 YMV o virus del mosaico del ñame	26
4.2.2.1.2 YMMV o virus del mosaico suave del ñame	27
4.2.2.2 Cucumovirus	27
4.2.2.3 Badnavirus	27
4.2.2.4 Carlavirus	28
4.2.2.5 Potexvirus	28
4.3 INSECTOS QUE ATACAN AL ÑAME	28
4.3.1 Insectos vectores de virus en ñame	29
4.3.1.1 Los Áfidos	29
4.3.1.1.1 Taxonomía	30
4.3.1.2 Los Cicadélidos	30
4.3.1.2.1 Taxonomía	31
4.4 TÉCNICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE VIRUS	35
4.4.1 Inoculación mecánica	35
4.4.2 Prueba nmunoenzimatica ELISA	35
4.4.3 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	36
4.4.4 Hibridación Molecular	37
5. MATERIALES Y MÉTODOS	38
5.1 ÁREA DE ESTUDIO	38
5.1.1 Ubicación geográfica	38
5.1.1.1 San Juan de Betulia	38
5.1.1.2 Sampués	39
5.1.1.3 Sincelejo	39

5.2 COLECTA DE EJEMPLARES	39
5.3 IDENTIFICACIÓN TAXONOMICA DE LOS INSECTOS	40
5.4 FRECUENCIA DE APARICIÓN DE LOS INSECTOS	40
5.5 PRUEBA ELISA INDIRECTA PARA POTYVIRUS	41
5.5.1 Selección de material vegetal y entomológico	41
5.5.2 Procedimiento	41
5.6 INCIDENCIA DE VIROSIS EN ÑAME	42
5.7 INDICE DE COSECHA EN ÑAME	43
5.8 PLANTAS ASOCIADAS AL CULTIVO DE ÑAME	43
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
6.1 IDENTIFICACIÓN TAXONOMICA DE LOS INSECTOS	44
6.2 FRECUENCIA DE APARICIÓN DE LOS INSECTOS	49
6.3 SELECCIÓN DE MATERIAL VEGETAL PARA ELISA	50
6.4 ELISA-INDIRECTA	51
6.5 INCIDENCIA DE VIROSIS EN ÑAME	53
6.6 ÍNDICES DE COSECHA EN ÑAME	56
6.7 PLANTAS ASOCIADAS AL CULTIVO	59
7. CONCLUSIONES	61
8. RECOMENDACIONES	62
9. BIBLIOGRAFÍA	63
ANEXOS	69

LISTA DE FIGURAS

Pág

Figura 1. Especies pertenecientes a la subfamilia Cicadellinae, colectados sobre plantas de ñame <i>Dioscorea alata</i> .	44
Figura 2. Especies pertenecientes a la subfamilia Coelidiinae, colectados sobre plantas de ñame <i>Dioscorea alata</i> .	46
Figura 3. Especies pertenecientes a la subfamilia Typhlocybinae, colectados sobre plantas de ñame <i>Dioscorea alata</i> .	47
Figura 4. Especies pertenecientes a la subfamilia Agallinae, colectados sobre plantas de ñame <i>Dioscorea alata</i> .	48
Figura 5. Especie perteneciente a la subfamilia Gyponinae, colectada sobre plantas de ñame <i>Dioscorea alata</i> .	48
Figura 6. Sintomatología en plantas de ñame, obtenidas en casa malla.	50
Figura 7. Una placa de ELISA al momento de realizar las lecturas de densidades ópticas	52
Figura 8. Sintomatología viral en plantas de ñame <i>Dioscorea alata</i> .	54
Figura 9. tubérculos de plantas asintomáticas y sintomáticas	57

LISTA DE CUADROS

	Pág
Cuadro 1. Composición de 100 g de materia seca del tubérculo de ñame, según varios autores.	21
Cuadro 2. Lista de cicadélidos (Homóptera: Cicadellidae) registrados en Colombia sobre diferentes plantas de importancia económica.	33
Cuadro 3. Subfamilias pertenecientes a la familia Cicadellidae.	49
Cuadro 4. Incidencia de virosis a partir de la sintomatología en plantas sintomáticas.	53
Cuadro 5. Porcentaje de infectación por localidad y por síntomas.	55
Cuadro 6. Producción de plantas sintomáticas y asintomáticas según la localidad.	58
Cuadro 7. Vegetación asociadas al cultivo de <i>Dioscorea alata</i> c.v Oso.	60

LISTA DE ANEXOS

	Pág
Anexo A. Cuadro de estadísticas de producción plantas sintomáticas y asintomáticas por localidad.	70
Anexo B. Cultivo de ñame <i>Dioscorea alata</i> cv. "oso".	71

RESUMEN

En este estudio preliminar se identificaron los cicadélidos presentes en cultivos de ñame de cinco localidades ubicadas en tres municipios del departamento de Sucre y su frecuencia de aparición dentro del cultivo, realizando colectas semanales por cultivo a lo largo de 10 transeptos lineales de 5 metros cada uno. Asimismo se comprobó la presencia de potyvirus en cicadélidos colectados en campo y en muestras vegetales de ñame por medio de la técnica ELISA indirecta para potyvirus. Los resultados indicaron el hallazgo de 21 especies de cicadélidos agrupados en cinco subfamilias; donde las especies de la subfamilia cicadellinae aparecen como las más frecuentes en el cultivo, con una frecuencia de aparición mayor que 0.30 y con un resultado positivo para dos especies de esta subfamilia, confirmándose así la presencia de potyvirus en estos insectos. Con este trabajo se pretende aportar información acerca de los cicadélidos involucrados en la transmisión de virus en ñame. Contribuyendo así al conocimiento de la entomofauna asociada a potyvirus en los cultivos de ñame del departamento de Sucre.

SUMMARY

In this preliminary study was identified cicadélidos presents in cultivations of yam of five places located in three municipalities of the department of Sucre and their appearance frequency inside the cultivation, carrying collections weekly for cultivation along ten lineal transeptos of five meters each one. Also was proven the potyvirus presence in cicadélidos collected in field and in samples yam vegetables by means of the technical ELISA indirect for potyvirus. The results indicated the discovery of twenty one cicadélidos species contained in five subfamily; where the species of the subfamily cicadellinae appear as the most frequent in the cultivation, with a frequency of more appearance that 0.30 and with a positive result for two species of this subfamily, being confirmed this way the potyvirus presence in these insects. With this work it is sought to contribute information about the cicadélidos involved in the virus transmission in yam. Contributing this way to the knowledge of the entomofauna associated to potyvirus in the cultivations of yam of the department of Sucre.

INTRODUCCIÓN

El ñame *Dioscorea spp* es una planta originaria de las regiones tropicales y subtropicales. Entre las especies más importantes se destacan *Dioscorea alata* y *Dioscorea rotundata*, las cuales constituyen un importante alimento cultivado en los países de África, Asia y América latina (Ammirato, 1984).

En Colombia el tubérculo de ñame es considerado como uno de los productos alimenticios básicos en la dieta de los habitantes de la Costa Atlántica y se siembra principalmente en los departamentos de Córdoba, Sucre y Bolívar (Sánchez y Hernández, 1998).

En los últimos años el cultivo de ñame se ha visto afectado por la presencia de diferentes plagas y enfermedades, que han traído como consecuencia la reducción en el tamaño del tubérculo y en general el rendimiento de la producción del mismo (Álvarez, 2000). Una de estas enfermedades es la virosis en campo, la cual tiene como causa principal de diseminación el uso de semillas provenientes de tubérculos producidos por plantas infectadas y la transmisión por parte de insectos vectores (Álvarez, 2000).

Estudios realizados en Nigeria, indican que en su ecosistema varias especies de áfidos (Aphididae) son los principales insectos involucrados en la transmisión de virus en ñame (Brunt, 1992); sin embargo, la existencia de cicadélidos (Cicadellidae) comunes en los cultivos de ñame del departamento de Sucre crean la posibilidad de transmisión viral en estos cultivos.

La familia Cicadellidae que contiene alrededor de 50 subfamilias en todo el mundo, ha sido reportada como uno de los principales insectos vectores importantes de virus que infectan a plantas (Godoy, 1997).

Su importancia económica radica en la capacidad que tienen para transmitir el virus al alimentarse en una planta enferma y posteriormente en una planta sana (Agrios, 1995).

Varias especies de cicadélidos (Cicadellidae) han sido reportadas en cultivos de importancia económica en Colombia (Posada, 1989), sin embargo, es poca la información local que se tiene acerca del papel de los cicadélidos como vectores de virus en ñame.

El presente trabajo es un estudio preliminar sobre la identificación de cicadélidos vectores de virus en los cultivos de ñame *Dioscorea alata* en algunas regiones del departamento de Sucre.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los cultivos de ñame de algunas regiones del departamento de Sucre, se ha evidenciado la presencia de virosis pero es poca la información local que se tiene a cerca de los vectores en la región.

Los insectos pertenecientes al orden homóptera, familia cicadellidae han sido considerados como uno de los principales vectores de virus en plantas (Agrios, 1995) y uno de los más comunes en cultivos de importancia económica en el país (Posada, 1989). La existencia de estos entomopatógenos en los cultivos de ñame del departamento de Sucre crea la posibilidad de transmisión de virus en dichos cultivos. Por lo tanto, se hace necesario aportar información a cerca de los cicadélidos y de su papel como vectores virales en los cultivos de ñame de este departamento.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

2.1.1 Identificar los cicadélidos vectores de potyvirus en ñame *Dioscorea alata* cv. "oso" en algunas áreas de los municipios de Sincelejo, Sampués y Betulia del departamento de Sucre.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1 Identificar taxonómicamente la subfamilia a la cual pertenecen los cicadélidos colectados en los cultivos de ñame.

2.2.2 Determinar la frecuencia de aparición de los cicadélidos asociados a *D. alata* cv. "oso".

2.2.3 Comprobar la presencia de potyvirus en plantas de ñame y en cicadélidos asociados al cultivo.

2.2.4 Determinar la incidencia de virosis en campo a partir de la sintomatología presente en ñame.

2.2.5 Determinar los índices de cosecha en plantas sintomáticas y asintomáticas de *D. alata* cv. "oso".

2.2.6 Reconocer las especies vegetales asociadas a los cultivos de ñame.

3. JUSTIFICACIÓN

El cultivo de ñame *Dioscorea spp* constituye una de las principales fuentes de ingreso y de oferta de alimento en muchas áreas del departamento de Sucre (Sánchez y Hernández, 1998). Sin embargo, en los últimos años se ha visto afectado por diferentes enfermedades que potencialmente podrían causar grandes pérdidas en los cultivos (Álvarez, 2000). Una de estas enfermedades es la atribuida a virus cuyo mecanismo de transmisión natural común en el campo es la infección a través de insectos vectores que inyectan el virus directamente en el floema de la planta (Gibbs y Harrison, 1976). Dentro de estos se encuentran varias especies de áfidos (Aphididae) reportadas como las principales transmisoras de virus en ñame y varias especies de cicadélidos (Cicadellidae) que aunque son comunes en los cultivos de ñame del departamento de Sucre es poco lo que se conoce a cerca de su papel como vectores virales en estos cultivos.

En atención a esto y debido a la presencia de virus en los cultivos de ñame de algunas regiones del departamento de Sucre, se propuso identificar los cicadélidos presentes en estos cultivos, realizando colectas en las áreas estudiadas y comprobando la presencia de virus en muestras vegetales y entomológicas por medio de la técnica inmunológica ELISA indirecta para la detección de potyvirus como grupo viral de alta probabilidad de ocurrencia en la zona.

Basados en este hecho, esta investigación permitirá contribuir al conocimiento de la entomofauna asociada a los patógenos virales.

4. MARCO REFERENCIAL

4.1 ASPECTOS GENERALES DEL CULTIVO DE ÑAME

El ñame, *Dioscorea spp* es un importante producto agrícola de las regiones tropicales y subtropicales. La planta se cultiva principalmente en África, Asia y América latina (Ammirato, 1984), siendo África el mayor productor, con el 96% de la producción mundial (IITA, 1993).

El tubérculo es aprovechado para el consumo de la población y el uso farmacológico (Sánchez y Hernández, 1997). Es utilizado como postre, dulces, fritos y en sopas (IITA, 1993).

En términos nutricionales, se caracteriza por su alto contenido en carbohidratos y minerales como el calcio, el hierro y el fósforo (Ayensu, 1972). Varios autores han estudiado su composición química (Cuadro 1).

Cuadro 1. Composición de 100 g de materia seca del tubérculo de ñame, según varios autores.

Componente	Unidad	Collazos et. al (1975)	Jacoby (1975)	Montaldo (1975)
Agua	g	72,2	72,4	72,6
Calorías	cal	112,0	105,0	100,0
Proteína	g	1,8	2,4	2,0
Grasas	g	1,5	0,2	0,2
Carbohidratos	g	23,5	24,1	24,3
Fibra	g	0,4	-	0,6
Calcio	mg	3,0	22,0	14,0
Fósforo	mg	30,0	-	43,0
Hierro	mg	0,7	0,8	1,3
Tiamina	mg	0,09	0,09	0,13

Fuente: Pinedo; 1975

Algunas especies contienen compuestos de alto valor medicinal como las saponinas y Diosgeninas (Stephens, 1994).

En Colombia, el ñame se cultiva a nivel de la Costa Atlántica, en los departamentos de Córdoba, Sucre y Bolívar principalmente, constituyéndose en una importante fuente de ingresos, de empleo rural y de oferta de alimento a sus pobladores (Sánchez y Hernández, 1998).

Entre las especies de mayor importancia económica se destacan *Dioscorea alata* L (ñame criollo) y *Dioscorea rotundata* Poir (ñame espino). Sin embargo, existen otras especies como el ñame papa (*D. bulbifera*), el ñame azúcar (*D. esculenta*), el ñame amarillo (*D. cayanensis*), el ñampín (*D. trifida*) y *D. dumetorum* (Acosta, 1980).

4.1.1 TAXONOMIA

Reino	Vegetal
Clase	Angiosperma
Subclase	Monocotiledóneas
Orden	Dioscoreales
Familia	Dioscoreaceae
Género	<i>Dioscorea</i>
Especie	<i>alata</i>

4.1.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

El género *Dioscorea* contiene más de 650 especies, la planta se caracteriza por ser monocotiledónea, de tallos delgados, generalmente débiles e incapaces de

soportar su propio peso (Montaldo, 1983).

Las hojas son de tamaño mediano, largamente pecioladas y de forma acorazonadas, dispuestas en forma opuesta o alterna alrededor del tallo (Álvarez, 2000). En algunas especies se forman tubérculos aéreos en las axilas de las hojas.

Las plantas son dioicas, con flores pequeñas, en forma de racimos, espigas o panículas, unisexuales con tres sépalos y tres estambres. En casi todas las especies cultivadas la floración es muy escasa (Acosta, 1980). El fruto es una cápsula con tres lóbulos, seca y transparente, y las semillas que contiene son pequeñas y aplanadas (Montaldo, 1983).

El tubérculo varía mucho en forma y tamaño, puede ser liso totalmente o presentar vellosidades, su color varía de blanco, amarillo, hasta morado y su pulpa es uniforme y compacta (Acosta, 1980).

4.2 PRINCIPALES ENFERMEDADES DEL ÑAME

El cultivo de ñame puede ser afectado por plagas y patógenos tales como insectos, nemátodos, hongos, enfermedades bacteriales y virales que solos o en combinación son responsables de la disminución y calidad de los tubérculos (IITA, 1993).

Entre las enfermedades más importantes se destacan la antracnosis del ñame producida por el hongo *Colletrotrichum gloesporoides*, que ataca el tallo y las hojas de las variedades susceptibles produciendo lesiones irregulares de color marrón; la marchitez producida por el hongo *Fusarium oxysporum*, que se

presenta como un amarillamiento en la planta; y las enfermedades virales que reducen la producción de los tubérculos (Álvarez, 2000).

4.2.1 ENFERMEDADES VIRALES

Los cultivos de ñame pueden ser afectados por diferentes enfermedades que potencialmente podrían causar grandes pérdidas en los cultivos (IITA, 1993). Dentro de estas se encuentran las enfermedades atribuidas a virus, las cuales comúnmente tienen como causa principal el uso de semillas provenientes de tubérculos producidos por plantas infectadas (Álvarez, 2000).

Sin embargo, el uso de herramientas contaminadas, la inoculación de virus con fines investigativos y la infección a través de insectos vectores son otras de las causas de diseminación viral (Roistacher, 1991).

Generalmente, las plantas que presentan enfermedades producidas por virus manifiestan síntomas muy característicos, dentro de los cuales se destacan: mosaico, moteado, bandeo transversal, decoloración de las venas, aclaramiento de las nervaduras, clorosis, deformación de hojas y enanismo de la planta (Agrios, 1995), similares a los reportados por Payares (2002) en los cultivos de ñame de algunas áreas del departamento de Sucre.

4.2.1.1 MOSAICO: Se refiere a la alternancia de áreas de color verde normal con otras cloróticas en la hoja afectada (French y Herbert, 1980).

4.2.1.2 MOTEADO: Indica la presencia de áreas claras y oscuras más pequeñas y menos definidas (French y Herbert, 1980).

4.2.1.3 DECOLORACIÓN DE LAS VENAS: Indica la presencia de franjas de tejido de otro color a lo largo de algunas de las venas o porciones de éstas (French y Herbert, 1980).

4.2.1.4 ACLARAMIENTO DE LAS NERVADURAS: Es frecuentemente el primer síntoma de infección sistémica y se refiere a la mayor transparencia de las nervaduras (French y Herbert, 1980).

4.2.1.5 AMARILLAMIENTO: Se refiere a la clorosis generalizada de la planta (Agrios, 1995).

Inmediatamente después de que las plantas son infectadas por virus, éstas desarrollan ciertos grados de alteraciones en sus sistemas funcionales, que contribuyen al desarrollo de los síntomas.

Uno de los principales sistemas funcionales de la planta que es afectado después de la infección viral es la fotosíntesis, la cual es disminuida notablemente al reducirse el nivel de clorofila por hoja, ocasionando diferentes grados de clorosis. De igual manera, otros procesos como la respiración y la regulación del crecimiento también son afectados.

Cuando la planta es infectada por virus, se produce un aumento en su tasa respiratoria y los tejidos afectados utilizan con mayor rapidez su reserva de carbohidratos. Por su parte, la cantidad de sustancias reguladoras del crecimiento (hormonas) son disminuidas al inducirse un aumento en las sustancias inhibidoras del crecimiento, desencadenando en las plantas modelos de crecimiento notablemente distintos (Agrios, 1995).

4.2.2 VIRUS QUE INFECTAN AL ÑAME

El ñame es un cultivo de bajo nivel tecnológico (Sánchez y Hernández, 1998) que tradicionalmente se siembra al lado de plantas como maíz y yuca, con un alto grado de malezas asociadas. De allí la posibilidad de transmisión de virus entre las plantas (Guzmán y Fontanilla, 2000).

Dentro de los grupos virales que infectan estos cultivos se destacan los potyvirus, cucumovirus, badnavirus, carlavirus y potexvirus (Thouvenel y Fauquet, 1987).

4.2.2.1 POTYVIRUS:

Es el grupo viral más grande que se conoce, comprende alrededor de 200 especies de virus de gran importancia económica. Está compuesto por una partícula filamentosa, flexuosa de ARN de sentido positivo.

Es transmitido mecánicamente y por insectos vectores, como áfidos y moscas blancas. Entre los síntomas más característicos producidos por estos virus se destacan: mosaicos, moteados, bandeos, manchas anulares, aclaración de nervaduras y enanismo (Brunt, 1992). Incluye al virus del mosaico del ñame (YMV) y al virus del mosaico suave del ñame (YMMV) (Mumford y Seal, 1997).

4.2.2.1.1 YMV o virus del mosaico del ñame:

Es uno de los virus más estudiados, debido a su diversidad y amplia diseminación sobre los cultivos (Mohamed y Mantell, 1976). Consiste en una partícula flexuosa, filamentosa de ARN de cadena sencilla de 15 X 785 nm, de 10 kb. Su cápside está constituida por un solo tipo de proteína de 34 kD. Sus síntomas más característicos son los mosaicos, moteados, clorosis sistémica, bandeo y

distorsión de la hoja.

Es transmitido por inoculación mecánica y por insectos vectores como *Aphis craccivora*, *A. gossypii*, *Rhopalosiphum maidis* y *Toxoptera citricidus*.

Se ha encontrado en *D. cayanensis*, *D. dumetorum* y *D. alata* (Thouvenel y Fauquet, 1986).

4.2.2.1.2 YMMV o virus del mosaico suave del ñame:

Es una partícula flexuosa, filamentosa de ARN de aproximadamente 12X750 nm.

Se caracteriza por presentar síntomas de moteado inconspicuo en las hojas.

No es transmitido a especies indicadoras herbáceas y el vector que lo transmite es desconocido (Brunt et. al, 1989).

4.2.2.2 CUCUMOVIRUS:

Son virus de ARN de cadena sencilla que no posee envoltura, son transmitidos por inoculación mecánica, por semilla y por un amplio rango de especies de áfidos (Brunt et. al, 1989). Es muy común en cultivos de regiones templadas, infecta plantas de por lo menos 40 familias de angiospermas y se manifiesta con síntomas de clorosis en la hoja. Comprende al virus del mosaico del pepino y a otros dos virus más (Agris, 1995).

4.2.2.3 BADNAVIRUS:

Son virus baciliformes de ADN de doble cadena circular. Comúnmente son transmitidos por un amplio rango de vectores como Aleyrodidae, Aphididae,

Cicadellidae y Pseudococcidae (Brunt et. al, 1996). Se caracteriza por presentar síntomas de distorsión y encrespamiento de la hoja (Hughes et. al, 1998).

4.2.2.4 CARLAVIRUS:

Son partículas filamentosas constituidas por ARN de cadena sencilla de sentido positivo, se manifiestan con síntomas de necrosis y de clorosis.

Son transmitidos por inoculación mecánica y por insectos vectores como *Myzus persicae* y *Aphis gossypii* (Brunt et.al, 1996). Comprende al virus latente del clavel doble y otros 34 virus más (Agrios, 1995).

4.2.2.5 POTEXVIRUS:

Son partículas filamentosas constituidas por ARN de cadena sencilla y de sentido positivo. Se caracterizan por presentar síntomas de mosaico en las plantas afectadas. Comprende al virus X de la papa y a otros 35 virus más (Agrios, 1995).

4.3 INSECTOS QUE ATACAN EL ÑAME

Las plantas de ñame pueden ser afectadas a lo largo de su ciclo de vida por un cierto número de insectos que pueden dañar sus diferentes partes e interferir con su desarrollo normal, ocasionando pérdidas a las cosechas.

Entre los insectos dañinos más comunes para el ñame se destacan: El curculiónido conocido como picudo negro (*Xystus sp*), cuya larva barrena el tallo de la planta produciendo el debilitamiento o la muerte parcial de la misma; la hormiga arriera (*Atta colombica* Guerin) que ataca las hojas y las partes tiernas del tallo, causando la defoliación total de la planta; el escarabajo del ñame (*Heteroligus sp*) que barrena el tubérculo almacenado, ocasionando

perforaciones que reducen la calidad del ñame; Varias especies de crisomélidos que producen perforaciones en las hojas, pero que no ocasionan daños económicamente significativos; y varias especies de áfidos que están involucrados en la transmisión de virus en ñame (Álvarez, 2000).

4.3.1 INSECTOS VECTORES DE VIRUS EN ÑAME

Varias especies de áfidos involucrados en la transmisión viral han sido reportados como los principales vectores de virus en ñame (Brunt, 1992). Sin embargo existen otros insectos vectores como los cicadélidos que podrían estar infectando dichos cultivos.

4.3.1.1 LOS AFIDOS:

Son insectos fitófagos, de cuerpo suave, que miden aproximadamente 2 mm de longitud. Su forma varía de circular a fusiforme y su coloración en vivo varía desde blanco hasta verde oscuro o negro.

Estos insectos, generalmente presentan un complicado ciclo de vida y un cierto grado de poliformismo, es decir, los adultos pueden ser alados o ápteros, dependiendo de las condiciones ambientales (Díaz, 1999).

Su importancia económica radica en la capacidad que tienen para transmitir virus al alimentarse en una planta enferma y posteriormente en una planta sana (Agrios, 1995).

4.3.1.1.1 TAXONOMÍA

Reino	Animalia
Filo	Artropoda
Clase	Insecta
Orden	Homoptera
Familia	Aphididae

Existen aproximadamente 4.000 especies de áfidos dentro de la familia aphididae (Díaz, 1999), sin embargo para el ñame se han reportado como principales especies vectoras de virus: *Aphis gossypii*, *Toxoptera citricidus*, *Aphis craccivora*, *Rhopalosiphum maidis* y *Myzus persicae*, los cuales transmiten los virus de manera no persistente (Thouvenel y Fauquet, 1979). Este tipo de transmisión de los virus indica que el pulgón vector adquiere y transmite el virus en pocos minutos y posteriormente lo elimina cuando se alimenta (Agrios, 1995).

4.3.1.2 LOS CICADÉLIDOS

Ocupan el segundo lugar entre los insectos transmisores de virus en plantas. Comúnmente son conocidos como cigarritas o saltahojas. La mayor parte de ellos miden entre 3 y 15 mm de longitud, son alargados, delgados y de forma más o menos fusiforme. Se caracterizan por presentar metamorfosis incompleta, pasando por los estadios de huevo, ninfa y adulto. Se desarrollan rápidamente y pueden tener hasta seis generaciones o más en un año. Las ninfas se alimentan de las mismas plantas y en la misma manera que los adultos, estas pasan por cinco estadios ninfales, para convertirse posteriormente en adultos que pueden vivir de unas semanas a unos meses (Godoy, 1997).

Estos insectos se alimentan exclusivamente de las hojas y tallos de muchas especies de plantas, usando el estilete de sus partes bucales chupadoras (Godoy, 1997).

Habitan preferentemente en gramíneas; algunas de ellas presentan especificidad por alguna planta, aunque generalmente tienen más de un hospedante (Hidalgo et. al, 1999).

La importancia económica de los cicadélidos radica en la capacidad que tienen para transmitir fitopatógenos (virus, micoplasmas, espiroplasmas y bacterias) que causan enfermedades y eventualmente la muerte de la planta (Nault, 1995).

Todos los virus transmitidos por estos insectos son circulativos y producen alteraciones en las plantas, principalmente en las regiones del floema, varios de ellos se propagan en el vector y algunas veces persisten a través de la muda y son transmitidos en grado variable a través de la etapa huevecillo del vector.

La mayoría de los cicadélidos vectores requieren de un período de alimentación de uno o varios días antes de que sean virulíferos, pero una vez que han adquirido al virus continúan siendo virulíferos por el resto de su vida (Agrios, 1995).

4.3.1.2.1 TAXONOMIA

Reino	Animalia
Filo	Artropoda
Clase	Insecta
Orden	Homoptera
Familia	Cicadellidae

Existen aproximadamente más de 50 subfamilias en todo el mundo, y a pesar de que muchas especies de importancia agrícola han sido descritas, la mayoría de las silvestres no tienen nombre (Godoy, 1997).

Para Colombia, los primeros registros concisos fueron hechos por Linnavuori, donde aparecen registradas aproximadamente 49 especies de varias subfamilias de Cicadellidae, entre las cuales se destacan: *Agallia cortigurata* Om, *A. repleta* VDz, *A. modesta* Osv. & Ball, *A. sagitifera*, *A. unigarro*, *A. nigracans* Uhl, *A. peregrinans* (Stål), pertenecientes a la subfamilia Agallinae; *Xerophloeia vinalis* perteneciente a la subfamilia Xerophloeinae; *Saivina fuscodorsata* (Fowl), *S. rubrolineata* (Bak), *S. bidentata* (DeLong), pertenecientes a la subfamilia Deltocephalinae; *Dalbulus maidis* (De L. & Wic), *Macrostelus fascifrons* (Stål) pertenecientes a la subfamilia Macrostelini y *Acinopterus reticulatus* V (Linnavuori, 1968).

Igualmente se tienen reportes de diferentes especies de cicadélidos registrados en Colombia atacando diferentes plantas cultivadas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Lista de cicadélidos (Homóptera: Cicadellidae) registrados en Colombia sobre diferentes plantas de importancia económica.

PLANTA	NOMBRE CIENTIFICO DEL INSECTO	NOMBRE COMÚN DEL INSECTO	ESTADO CAUSANTE DEL DAÑO
Yuca (<i>Manihot utilisima</i>)	<i>Gypona sp</i>		Adulto y ninfa
Papa (<i>Solanum tuberosum</i>)	<i>Amplicephalus Funzaensis</i> <i>Empoasca papae</i> <i>Empoasca prona</i> <i>Paratanus sativae</i> <i>Paratanus yusti</i>	Cigarrita funzana Lorito de la papa Lorito verde del maíz Cigarrita con punto amarillo	Adulto y ninfa
Maíz (<i>Zea mays</i> L.)	<i>Agailia lingula</i> <i>Chlorotettix nigromaculatus</i> <i>Cicadulina pastusae</i> <i>Daibulus maidis</i> <i>Draeculacephala clypeata</i> <i>Draeculacephala soiuta</i> <i>Empoasca sp</i> <i>Exitianus atratus</i> <i>Hortensia similis</i>	Cicadulina Cigarrita amarilla del maíz Chicharrita cabecipuntuda Lorito verde	Adulto y ninfa
Frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	<i>Agailia lingula</i> <i>Empoasca Kraemeri</i> <i>Empoasca papae</i> <i>Empoasca prona</i>	Lorito verde del frijol Lorito verde de la papa	Adulto y ninfa
Habichuela (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	<i>Empoasca sp</i>	Lorito verde	Adulto y ninfa
Arroz (<i>Oryza sativa</i> L.)	<i>Draeculacephala clypeata</i> <i>Graminella lambda</i> <i>Hortensia similis</i>	Chicharrita cabecipuntuda Chicharrita verde del arroz	Adulto y ninfa
Algodón (<i>Gossypium sp</i>)	<i>Empoasca kraemeri</i> <i>Oncometopia sp</i> <i>Scaphytopius fuliginosus</i>	Lorito verde del frijol Saltamontes del amachamiento de la soya	Adulto y ninfa

Caña de azúcar (<i>Saccharum africanum</i> L.)	<i>Draeculacephala clypeata</i>	Chicharrita cabecipuntuda	Adulto y ninfa
Melón (<i>Cucumis melo</i> L.) y otras cucurbitáceas	<i>Empoasca sp</i>	Lorito verde	Adulto y ninfa
Cocotero (<i>Cocos nucifera</i> L.)	<i>Plesiommata corniculata</i>		Adulto y ninfa
Cítricos (<i>Citrus sp</i>)	<i>Homalodisca noressa</i>		Adulto y ninfa
Ajonjolí (<i>Sesamun indicum</i> L.)	<i>Empoasca sp</i>	Lorito verde	Adulto y ninfa
Pastos	<i>Amplicephalus brevis</i> <i>Amplicephalus funzaensis</i> <i>Baiciutha neglecta</i> <i>Cicaulina pastusae</i> <i>Draeculacephala solida</i> <i>Empoasca bispinata</i> <i>Metascarta impressifrons</i> <i>Paratanus sativa</i> <i>Paratanus yusti</i>	Cigarrita funzana Cicadulina Lorito verde de la alfalfa Chicharrita rayada Cigarrita con punto amarillo	Adulto y ninfa
Papayo (<i>Carica papaya</i> L.)	<i>Empoasca papayae</i> <i>Empoasca stevensi</i>	Lorito verde del papayo	Adulto y ninfa

fuelle: Posada; 1989

4.4 TÉCNICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE VIRUS

Uno de los criterios básicos utilizados para establecer la presencia de virus en plantas es la observación directa de los síntomas en las mismas. Sin embargo el uso de técnicas virológicas como la inoculación mecánica, la prueba inmunoenzimática ELISA y las pruebas moleculares PCR e hibridación molecular permiten verificar de manera confiable la presencia de virus en la planta (Agris, 1995).

4.4.1 INOCULACIÓN MECÁNICA

Consiste en la transmisión de virus a plantas hospedantes específicas, mediante inoculación con savia o a través de injertos. Esta prueba se basa en la susceptibilidad de algunas plantas a virus y a su capacidad de expresar síntomas característicos (French y Herbert, 1980).

4.4.2 PRUEBA INMUNOENZIMÁTICA ELISA

Es la técnica más utilizada para la detección de virus en plantas. Se basa en la utilización de anticuerpos policlonales y/o monoclonales específicos que reaccionan con la secuencia de aminoácidos de la proteína de la cápside del virus (Agris, 1998).

Las muestras a analizar son procesadas y un extracto de las mismas se dispensa en placas especiales. Los pozos de la placa son cubiertos con el anticuerpo que es específico de un virus determinado y que se unirá a él si están presentes partículas virales.

La adición de un segundo anticuerpo conjugado con la enzima fosfatasa alcalina pone de manifiesto, en presencia de determinados reactivos la existencia de partículas virales en la muestra mediante una reacción colorimétrica (Biobest, 2000).

Las ventajas de ésta técnica radica en su gran sensibilidad, en el gran número de las muestras que pueden analizarse, en la pequeña cantidad de antisuero que se utiliza, en que los resultados obtenidos son cuantitativos y en que puede ser realizada sin importar la morfología del virus (Agrios, 1995).

4.4.3 REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

Esta técnica permite detectar niveles muy bajos de virus en la planta. Se basa en la especificidad de secuencias del ADN o ARN de los virus. En el caso de los virus cuyo ácido nucleico es ARN (la mayoría) es necesario sintetizar ADN a partir de ARN del virus para poder proceder a los pasos siguientes.

En cada test de PCR se realiza una reacción de amplificación del ADN del virus (o del ADN obtenido a partir del ARN) mediante una enzima polimerasa que hace múltiples copias de este ADN detectándose mediante electroforesis en geles de agar. (Biobest, 2000).

Está técnica es mucho más eficaz que ELISA, puesto que no depende de antisueros de calidad para su uso específico como ocurre en ELISA y no se requiere de una gran cantidad de material vegetal para la extracción del material genómico, pero es mucho más costosa (Navajas et. al; 1999).

Una variación de esta técnica es la IC-RT-PCR (Inmunocaptura- Reacción en Cadena de la Polimerasa) la cual es mucho más sensitiva que la técnica ELISA

(Bousalem et. al; 2000).

4.4.4 HIBRIDACIÓN MOLECULAR

Consiste en el empleo de sondas de ADN o ARN marcadas que son específicas para la secuencia de ADN o ARN de un virus específico. Su uso es más complejo que la técnica ELISA y está adaptada a cada tipo de virus y planta.

Otras técnicas utilizadas para el diagnóstico de virus son Western blott y la microscopía electrónica inmunoabsorbente (ISEM) (Agrios, 1995).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 ÁREA DE ESTUDIO

El presente estudio se llevó a cabo en cinco fincas del departamento de Sucre, donde el ñame es cultivado en asocio con otros cultivos como maíz y yuca.

MUNICIPIO	VEREDA	FINCA
Sampués		Las Flores
Betulia		El Campano
Sincelejo	Sabanas del Potrero	La Lucha
Sincelejo	Sabanas del Potrero	El Totumo
Sincelejo		Villa Angela

5.1.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA

5.1.1.1 SAN JUAN DE BETULIA:

Este municipio se encuentra ubicado al sur oriente del departamento de Sucre, en la subregión sabanas a 9°24' de latitud norte y 9°12' de latitud sur, y tiene un área total de 226 Km². Se halla a una altitud de 135 msnm y el clima es cálido seco con dos estaciones climáticas como el resto del departamento (Instituto Geográfico Agustín Codazzi, 1998). La pluviosidad anual para el año 2002 fue de 1323 mm y la T° media de 31 °C (Estación metereológica finca la montaña, 2002).

5.1.1.2 SAMPUES:

El municipio de Sampués, está ubicado en la republica de Colombia a 17 Km de Sincelejo en el sector occidental del departamento de Sucre, en la subregión sabanas. Cuenta con un área total de 209 Km², aproximadamente y se encuentra en el piso térmico cálido. Se encuentra localizado a 9° 15' de latitud norte y 9° 5' de latitud sur, y se halla a 160 msnm (Instituto Geográfico Agustín Codazzi, 1998). La pluviosidad anual para el año 2002 fue de 962.6 mm y la temperatura promedio fue de 28.2 C (Estación metereológica Universidad de Sucre, sede el Perico).

5.1.1.3 SINCELEJO:

Pertenece a la subregión Montes de María, con una extensión de 216 km². Su posición geográfica en el país es de a 9° 13' de latitud sur, 75° 20' de longitud este y 7° 32' de longitud oeste. Se halla a una altitud de 213 msnm y el clima es cálido con influencia de los vientos del noreste (Instituto Geográfico Agustín Codazzi, 1998). La T° media para el año 2002 fue de 26.4 C y la pluviosidad media anual fue de 1337 mm (Estación metereologica Universidad de Sucre, sede Puerta Roja).

5.2 COLECTA DE EJEMPLARES

En cada área seleccionada, se colectaron cicadélidos presentes en plantas de ñame, utilizando una red entomológica, a lo largo de 10 transectos lineales continuos de 5 metros de ancho cada uno, sobre todas las plantas de una línea.

Los jámeos se realizaron sobre follaje, con dos desplazamientos (ida-regreso) (Amat, 2002). También se realizaron colectas directamente sobre lámina foliar utilizando frascos, bolsas plásticas y aspiradores bucales.

Las jornadas de captura se realizaron una vez por semana en las horas de la mañana (8 AM- 2 PM), desde el tercer mes del cultivo hasta la cosecha del tubérculo, y los individuos colectados para su descripción, fueron depositados en frascos con alcohol etílico al 70% con sus respectivos datos de colección: fecha, lugar y código, dejando una colección de referencia (Gaviño, 1974).

Los insectos colectados para evaluar la presencia de virus se conservaron a 4C en tubos eppendorf (Bousalem et al, 2000) en ausencia de alcohol.

5.3 IDENTIFICACIÓN TAXONOMICA DE LOS INSECTOS

Los cicadélidos provenientes de campo fueron identificados a nivel de subfamilia utilizando las claves entomológicas de Nielson Mervin (Nault y Rodríguez, 1995) para los cicadélidos transmisores de virus. A las especies diferentes de cada subfamilia se les dio una clave numérica ascendente (sp1, sp2... spn) según su número se iba incrementando en cada una de las colectas.

De todas las diferentes especies colectadas se separaron machos y hembras y se remitieron al exterior a taxónomos especialistas en la familia para lograr su identidad.

5.4 FRECUENCIA DE APARICIÓN DE LOS INSECTOS

La frecuencia de cicadélidos en los diferentes cultivos se determinó de acuerdo con el cálculo utilizado por Hidalgo et.al (1999), donde la frecuencia de aparición es igual al número total de muestras con especies dividido sobre el número total de muestras. Expresada en la siguiente ecuación:

$$C=Ma/Mt$$

Donde, C= Frecuencia de aparición

Ma= Número total de muestras con especies

Mt= Número total de muestras

5.5 PRUEBA ELISA INDIRECTA PARA POTYVIRUS

5.5.1 SELECCIÓN DE MATERIAL VEGETAL Y ENTOMOLOGICO

Del total de tubérculos cosechados en campo, se recolectaron aquellos provenientes de plantas que presentaban la sintomatología viral más representativa de cada cultivo y de plantas que no expresaron los síntomas. Posteriormente se cortaron segmentos de 30-40 g, los cuales fueron desinfectados mediante inmersión en BENOMIL al 2% por espacio de 5 min y se depositaron en bolsas de polietileno que contenían una mezcla de suelo desinfectado (1:1:1) (Tierra negra, Arena lavada, material vegetal en descomposición y formol al 5%). Seguidamente, se hizo el traslado a casa malla a temperatura ambiente (37 C) para la obtención de lámina foliar y posterior análisis viral.

Los insectos utilizados para el diagnóstico de virus correspondieron aquellos colectados en las plantas de ñame durante la época del cultivo.

5.5.2 PROCEDIMIENTO

Las muestras vegetales y entomológicas provenientes de campo fueron analizadas utilizando el protocolo de AGDIA (1998), para confirmar la presencia de potyvirus.

Se maceró por separado 0.5 g de lámina foliar con 5 ml de buffer de extracción (1X) y 0.05 g de material entomológico con 1 ml de buffer de extracción (1X), en bolsas plásticas ZIPLOC (10X15 cm), luego, se adicionaron por separado 100 µl del extracto vegetal y entomológico en cada pozo de la placa, por

duplicado para cada muestra utilizando un control positivo (Kit), uno negativo y un blanco. Los extractos se dejaron a 4 C durante la noche y posteriormente se eliminó el macerado.

Después de 4 lavados con PBS-Tween por 5 min, se adicionaron 100 µl de anticuerpo ANTI-Potyvirus en dilución 1:200 con el buffer ECI (1X). Se dejó por 1h a temperatura ambiente (29C) y se hicieron 4 lavados con PBS-Tween por 5 min. Seguidamente, se adicionó 100 µl de anticuerpo conjugado a la fosfatasa alcalina y se dejó por 1h a temperatura ambiente. Después de 4 lavados con PBS-Tween por 5 min, se adicionaron 100 µl de sustrato de la fosfatasa alcalina (2 tabletas en 10000 µl de buffer de sustrato). Una vez transcurrido 60' de incubación se realizaron las lecturas de densidad óptica en un lector de ELISA con un filtro de 410 nm.

Todas aquellas muestras con valores de densidad óptica dos veces mayor que el control negativo fueron tomadas como positivas para potyvirus (AGDIA ,1998), incluso aquellas que estaban al límite del rango del control negativo.

5.6 INCIDENCIA DE VIROSIS EN ÑAME

El porcentaje de incidencia de virosis en ñame se realizó teniendo en cuenta la sintomatología viral expresada en las plantas. Para esto se marcaron al azar un número de 50 plantas, realizando un recorrido en forma de X a lo largo del cultivo y se cuantificaron las plantas sintomáticas y asintomáticas, reportando la sintomatología viral presente durante cada una de las visitas (Sánchez et.al, 2001).

La incidencia de virosis se halló según el cálculo utilizado por la Consejería de salud (1998), donde la incidencia es igual al número de plantas sintomáticas dividido sobre el número de plantas muestreadas por 100, expresada en la siguiente ecuación:

$$I = \frac{\text{Nº de plantas sintomáticas}}{\text{Nº de plantas muestreadas}} \times 100$$

5.7 INDICES DE COSECHA EN ÑAME

Al final del cultivo, los tubérculos provenientes de plantas previamente marcadas fueron pesados. Con los datos obtenidos se aplicó la prueba estadística de Mann-Whitney para determinar la producción de plantas sintomáticas y asintomáticas según la localidad.

5.8 PLANTAS ASOCIADAS AL CULTIVO DE ÑAME

Para reconocer las especies vegetales asociadas al cultivo de ñame, en cada área de estudio se realizó un listado de las principales plantas presentes dentro del cultivo, esto incluía arbustos, gramíneas, cucurbitáceas y malezas asociadas, de las cuales se recolectaron muestras que fueron identificadas con base a la información suministrada por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA, 1988).

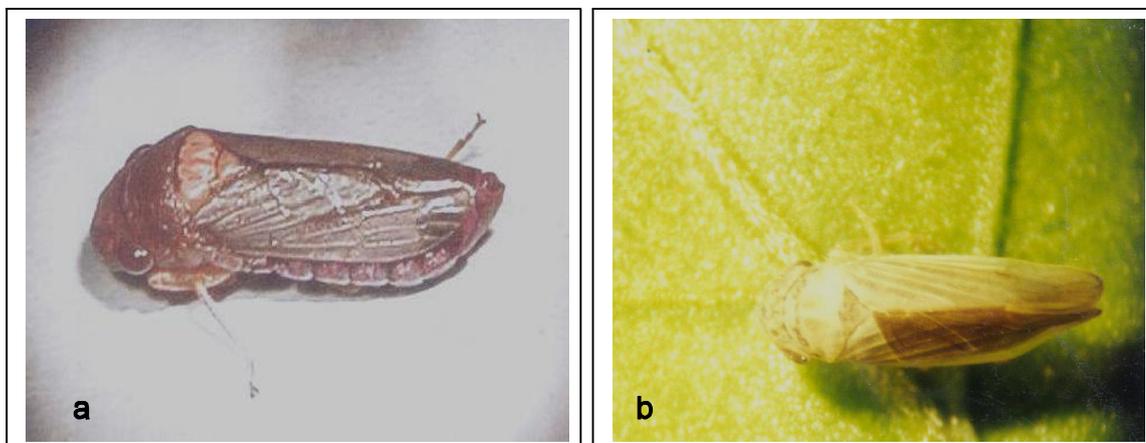
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LOS INSECTOS

En las diferentes áreas de estudio se encontraron un total de 21 especies de cicadélidos, pertenecientes a las subfamilias Cicadellinae, Coelidiinae, Typhlocybinae, Agallinae y Gyponinae (Figura 1-5), todas ellas reportadas como poseedoras de especies transmisoras de virus en plantas (Nault y Rodríguez; 1995).

Estos hallazgos evidencian la rica diversidad de cicadélidos asociados a los cultivos de ñame *Dioscorea alata* en nuestro departamento y demuestra la gran importancia que parecen tener estas especies como propagadores de la infección viral en estos cultivos.

Figura 1. Especies pertenecientes a la subfamilia Cicadellinae, colectados sobre plantas de ñame *Dioscorea alata*, a. Especie 1, b. Especie 2, c. Especie 3, d. Especie 4, e. Especie 5, f. Especie 6, g. Especie 7, h. Especie 8.



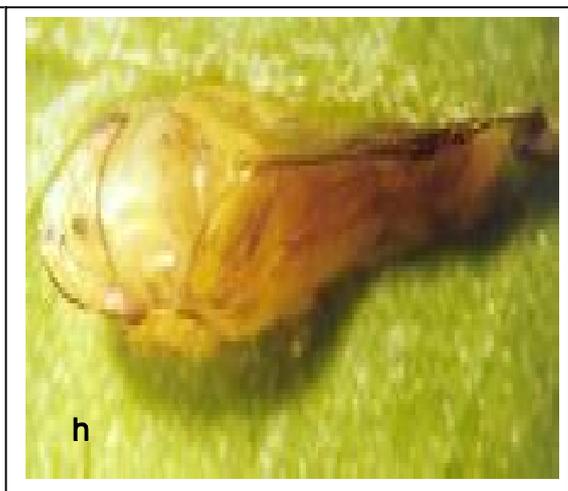


Figura 2. Especies pertenecientes a la subfamilia Coelidiinae, colectados sobre plantas de ñame *Dioscorea alata*, a. Especie 1, b. Especie 2, c. Especie 3, d. Especie 4.

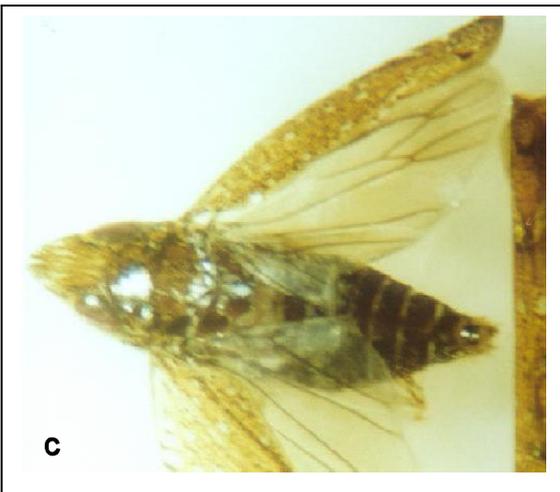


Figura 3. Especies pertenecientes a la subfamilia Typhlocybinae, colectados sobre plantas de ñame *Dioscorea alata*, a. Especie 1, b. Especie 2, c. Especie 3, d. Especie 4.



Figura 4. Especies pertenecientes a la subfamilia Agallinae, colectados sobre plantas de ñame *Dioscorea alata*, a. Especie 1, b. Especie 2.



Figura 5. Especie perteneciente a la subfamilia Gyponinae, colectada sobre plantas de ñame *Dioscorea alata*.



6.2 FRECUENCIA DE APARICIÓN DE LOS INSECTOS

Al determinar la frecuencia de aparición de cicadélidos en los cultivos de ñame *D. alata* cv. "oso" de las localidades estudiadas, se observó que las especies de la subfamilia cicadellinae presentaron una frecuencia mayor de 0.30, las de las subfamilias coelidiinae, typhlocybynae y agallinae una frecuencia mayor e igual a 0.10 y las de la subfamilia giponinae una frecuencia menor de 0.10 (Cuadro 3).

Estos valores de frecuencia indican que las especies de la subfamilia cicadellinae fueron muy frecuentes, las de las subfamilias coelidiinae, typhlocybynae y agallinae frecuentes y las de la subfamilia gyponinae poco frecuente. La alta frecuencia de especies pertenecientes a cicadellinae en los cultivos de ñame sugiere que estas son especies relacionadas con el hábitat del cultivo, por lo tanto podrían estar realizando funciones vitales en el mismo como la reproducción y alimentación, mientras que la baja frecuencia de especies pertenecientes a gyponinae puede estar relacionada con la preferencia por otras plantas o que se trata de insectos ocasionales (Hidalgo et. al, 1999).

Cuadro 3. Subfamilias pertenecientes a la familia Cicadellidae

SUBFAMILIA	Nº DE ESPECIES	FRECUENCIA
Cicadellinae	8	0.38
Coelidiinae	6	0.29
Typhlocybynae	4	0.19
Agallinae	2	0.10
Gyponinae	1	0.04
TOTAL	21	1.00

C > 0.30, Muy frecuente; 0.29 > C > 0.10, frecuente; C < 0.10, poco frecuente (Hidalgo et.al, 1999).

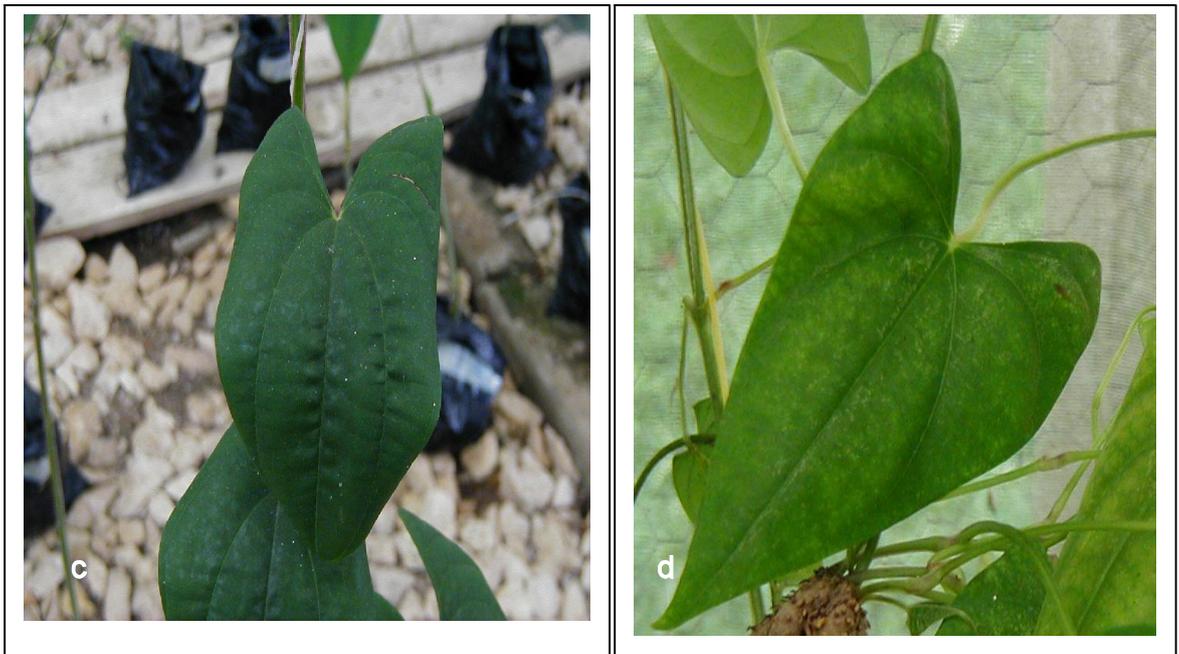
6.3 SELECCIÓN DE MATERIAL VEGETAL PARA ELISA

En las plantas que fueron obtenidas en casa malla para su análisis viral, se observó que aquellas que provenían de plantas sintomáticas expresaron los mismos síntomas que sus progenitoras en el campo: bandeo, mosaico, moteado y deformación de lámina foliar (Figura 6), mientras que aquellas que provenían de plantas asintomáticas no expresaron ningún síntoma.

Este resultado evidencia que una de las causas principales de virosis en los cultivos es la semilla contaminada, sin embargo, hay que considerar el importante papel de los insectos vectores como agentes propagadores de la infección viral en el campo.

Figura 6. Sintomatología en plantas de ñame, obtenidas en casa malla. Mostrándose a. bandeo, b. mosaico, c. Deformación, d. Moteado.





6.4 ELISA-INDIRECTA

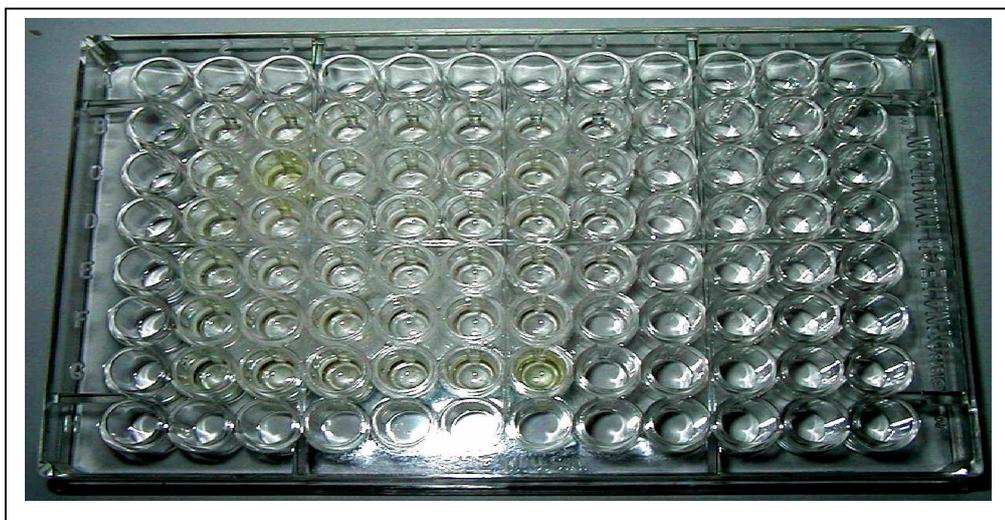
Al realizar el análisis serológico de los cicadélidos colectados en campo y de las muestras vegetales provenientes de casa malla (Figura 7), se observó que las densidades ópticas de los cicadélidos analizados oscilaron entre 0.229 y 0.436 y la de las plantas entre 0.243 y 0.401. Por su parte, el control negativo presentó una densidad óptica que oscilaba entre 0.200 y 0.216, mientras que la del control positivo oscilaba entre 0.438 y 0.560.

De 10 especies de cicadélidos analizados, 2 de ellas pertenecientes a las especie1 y a la especie 2 de la subfamilia cicadellinae resultaron positivas para potyvirus, mientras que las otras especies resultaron negativas puesto que no alcanzaron valores de densidad óptica superiores a dos veces el control negativo ni tampoco estaban al límite del rango de este control.

De las 8 plantas analizadas, 2 con síntomas de mosaico resultaron positivas para potyvirus y 4 con síntomas de bandeo, moteado y deformación de lámina foliar mostraron densidades ópticas por encima del control negativo pero no alcanzaron valores superiores a dos veces este control, por lo que se tomaron como sospechosas. Todas las plantas asintomáticas analizadas, resultaron negativas, puesto que presentaron densidades ópticas que no sobrepasaban a la del control negativo.

Con base en lo anterior, se presume que las especies pertenecientes a cicadellinae podrían estar involucradas en la transmisión de virus como vectores en los cultivos de ñame. Sin embargo, el hecho de que el resto de las muestras analizadas no fueran positivas por ELISA podría indicar que la concentración viral en estas muestras fue menor a los límites de detección de la prueba utilizada o que podrían estar infectadas por otros virus no analizados en este trabajo (Sánchez et, al. 2001).

Figura 7. Una placa de ELISA al momento de realizar las lecturas de densidades ópticas a 410 nm; donde el color amarillo representa una reacción positiva.



6.5 INCIDENCIA DE VIROSIS EN ÑAME

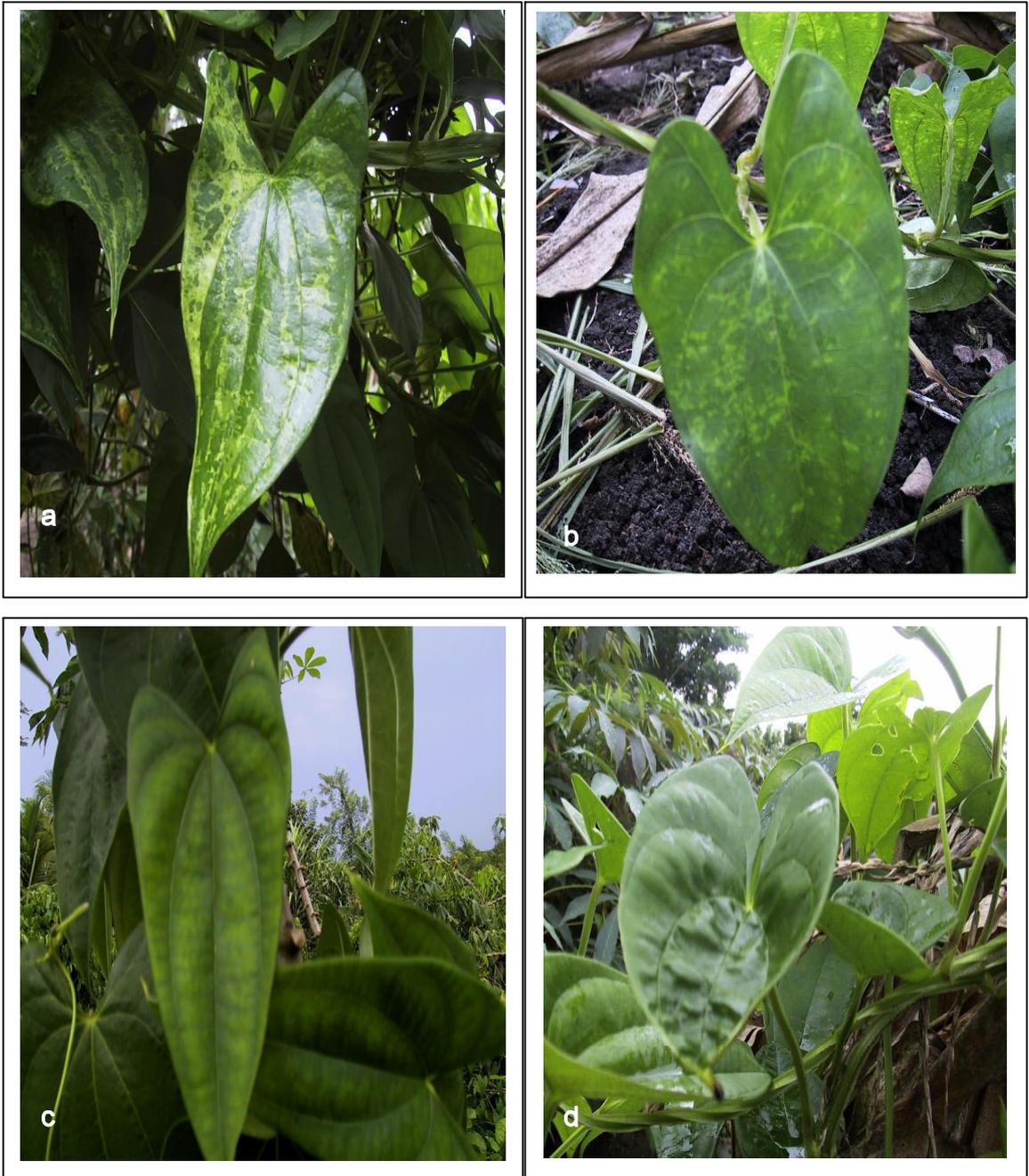
Los datos de incidencia de virosis a partir de la sintomatología expresada en el cultivo coincidieron con los reportados por Payares (2002) en otras localidades de Sincelejo, Sampués y Betulia, donde la rata de infección correspondió a más de un 50% (Cuadro 4) y los síntomas más característicos fueron: moteado, bandeo, mosaico y deformación de lámina foliar (Figura 8), con mayor predominancia del bandeo en todas las localidades (Cuadro 5).

Estos resultados indican una amplia diseminación de virosis en los cultivos de ñame del departamento de Sucre, donde comúnmente este hecho es atribuido al uso de semillas provenientes de tubérculos de plantas infectadas, sin embargo la presencia de insectos vectores tales como los cicadélidos podrían estar jugando un papel muy importante en la diseminación de esta virosis, puesto que la diseminación del virus generalmente está correlacionada con la presencia y actividad de los posibles vectores presentes en la zona. De hecho el tipo de vector puede predecirse determinando el patrón de expansión del virus y los huéspedes preferenciales (Gibbs y Harrison, 1976).

Cuadro 4. Incidencia de virosis a partir de la sintomatología en plantas sintomáticas.

LOCALIDAD	INCIDENCIA DE VIROSIS
Las Flores (Sampués)	56 %
El Campano (Betulia)	60 %
La Lucha (Sincelejo)	66 %
El Totumo (Sincelejo)	54%

Figura 8. Síntomatología viral en plantas de ñame *Dioscorea alata*. Mostrándose, a. Mosaico, b. Moteado, c. Bandedo, d. Deformación.



Cuadro 5. Porcentaje de infectación por localidad y por síntomas.

LOCALIDAD	BANDEO %	BANDEO Y MOTEADO %	BANDEO Y MOSAICO %	MOTEADO %	MOSAICO %	DEFORM %	BANDEO Y DEFORM %	MOTEADO Y MOSAICO %	MOTEADO Y DEFORM %	SINTOMÁTIC TOTALES %
La Lucha	45.2	4.76	2.38	9.52	2.38	0	4.76	0	0	69.0
Las Flores	20.0	4.00	0	0	3.37	12.0	20.0	0	0	56.0
El Totumo	29.6	7.41	0	11.1	0	0	0	3.70	7.41	59.2
El Campano	17.5	5.00	7.50	12.5	2.50	10.0	7.50	0	5.0	67.5

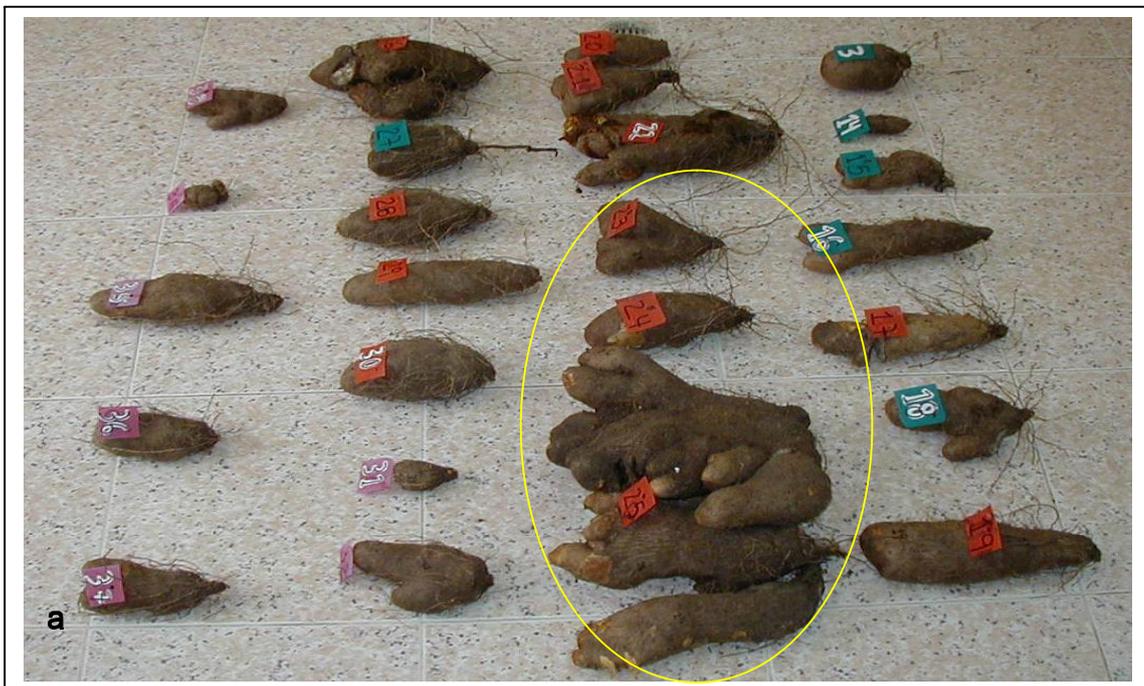
6.6 INDICES DE COSECHA EN ÑAME

El análisis de los índices de cosecha realizados para los distintas localidades mostró una reducción del 50% en la producción de plantas sintomáticas de la localidad de las Flores, mientras que en las otras localidades no hubo diferencias significativas entre la producción de plantas sintomáticas y plantas asintomáticas (Cuadro 6 y anexo A).

La baja producción de plantas sintomáticas en el cultivo de la localidad de las Flores evidencia la severidad de las enfermedades virales sobre el rendimiento de las cosechas, lo cual se ve reflejado en el tamaño y la calidad de los tubérculos (Figura 9).

El hecho de que no se presentaran diferencias significativas en las otras localidades también es de esperarse puesto que así como las pérdidas pueden llegar a ser severas también pueden llegar a ser moderadas o insignificantes (Agrios, 1995).

Figura 9. *D. alata* cv. "oso". Las Flores. Sampués. a. Tubérculos de plantas asintomáticas, b. Tubérculos de plantas sintomáticas.



Cuadro 6. Producción de plantas sintomáticas y asintomáticas según la localidad.

Localidad	La Lucha		El Totumo		El Campano		Las Flores	
	Asintomáticas	Sintomáticas	Asintomáticas	Sintomáticas	Asintomáticas	Sintomáticas	Asintomáticas	Sintomáticas
Tipo de Plantas								
Producción Media (ton/ha)	8.41 (a)	8.98(a)	6.60(a)	8.48(a)	2.71(a)	2.12(a)	4.34(a)	2.25(b)
Producción Media (g/pta)	1.589,23 (a)	1697,59 (a)	1247,27 (a)	1602.5 (a)	512,31 (a)	401,11 (a)	820,91 (a)	425.71 (b)
Número de plantas	13	29	11	16	13	27	11	14

Mann-Whitney, $\alpha = 0.5\%$

6.7 PLANTAS ASOCIADAS AL CULTIVO

En la vegetación asociada al cultivo de ñame se pudieron observar un alto grado de malezas y plantas asociadas (Cuadro 7 y anexo B) dentro de las cuales algunas como el frijol (*Vigna unguiculata*), la batata (*Ipomoea batata*), la campanilla (*Ipomoea purpurea*), el bicho (*Cassia tora*) y la verbena (*Verbena spp*) presentaron una sintomatología de mosaico y moteado, similar al observado en las plantas de ñame (*Dioscorea alata*).

Con base en lo anterior se puede inferir que las plantas asociadas al cultivo de ñame podrían estar implicadas en la transmisión de diferentes grupos virales, como reservorios de los mismos y como hospederas de diferentes especies de insectos vectores.

Sánchez et. al (2001) considera que para que ocurra la diseminación de virus es necesario la presencia de fuentes de inóculo primario, los insectos vectores y aquellas especies vegetales que los hospedan. Thresh, 1983 reconoce a las malezas y plantas voluntarias hospederas de virus que crecen dentro del área de cultivo y en sus alrededores como las fuentes más importantes a partir de las cuales ocurre la introducción de virus a un cultivo.

Cuadro 7. Vegetación asociadas al cultivo de *Dioscorea alata* c.v Oso

NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTIFICO
YUCA	<i>Manihot esculenta</i>
MAÍZ	<i>Zea Mays</i>
BATATA	<i>Ipomoea batata</i>
PLATANO	<i>Musa spp</i>
FRIJOL	<i>Vigna unguiculata</i>
PEPINO	<i>Cucumis sativus</i>
PATILLA	<i>Citrullus spp</i>
PAPAYA	<i>Carica papaya</i>
CAMPANILLA	<i>Ipomoea purpurea</i>
ESCOBILLA BABOSA	<i>Sida spp</i>
TRIPA DE POLLO	<i>Euphorbia hirta</i>
BICHO	<i>Cassia tora</i>
VERBENA	<i>Verbena spp</i>
VERDOLAGA	<i>Portulaca oleracea</i>
PRINGAMOSA	<i>Jatropha urens</i>
PAJA MONA	<i>Leptochloa filiformis</i>
PATA DE GALLINA	<i>Eleusine indica</i>
CADILLO DE BOLSA	<i>Cenchrus echinatum</i>
COQUITO	<i>Cyperus rotundus</i>
BLEDO DE PUYA	<i>Amaranthus spinosus</i>

7. CONCLUSIONES

Los resultados del presente trabajo permiten establecer que en los cultivos de ñame *Dioscorea alata* de algunas regiones del departamento de Sucre se presentan varias especies de cicadélidos pertenecientes a las subfamilias Cicadellinae, Coelidiinae, Typhlocybinae, Agallinae y Giponinae.

Las especies de cicadélidos pertenecientes a la subfamilia Cicadellinae son las de mayor frecuencia de aparición en los cultivos de ñame de las localidades estudiadas.

La presencia de cicadélidos en los cultivos de ñame puede estar relacionada con la diseminación de virosis, pero se requiere de experimentos de transmisión para confirmar su actividad como vectores.

La técnica ELISA indirecta, es eficiente para la detección de potyvirus en especies de cicadélidos cuando las concentraciones virales son mayores e iguales a los límites de detección de la prueba.

Es factible que los cicadélidos encontrados en los cultivos de ñame *Dioscorea alata* del departamento de Sucre, sean portadores de potyvirus, sin embargo se necesitan de técnicas más sensibles como la IC- RT-PCR para su confirmación.

8. RECOMENDACIONES

Realizar experimentos de transmisión para confirmar que especies de cicadélidos son vectores de virus en ñame *Dioscorea alata*.

Emplear técnicas más sensitivas como la IC-RT-PCR para la detección de virus en muestras vegetales y entomológicas.

Debido a la importancia como reservorios naturales de virus y de insectos vectores, se hace necesario el estudio de malezas asociadas a *Dioscorea alata*.

Implementar un laboratorio de entomología en la Universidad de Sucre, para contribuir al avance de esta área en nuestro departamento.

9. BIBLIOGRAFÍA

ACOSTA, Carlos. El cultivo del ñame *Dioscorea spp.* En : Temas de orientación agropecuaria (TOA). No 145. (1980); p. 79.

AGDIA. Técnica de ELISA DAS Indirecta Para Potyvirus. Catalogo Number Cab 27200. Bogotá, 1998. p. 5.

AGRIOS, George. Fitopatología. México : Limusa, 1995. p. 756.

ALVAREZ, Andrés. Prácticas agronómicas para el cultivo del ñame. En : GUZMÁN, Mónica y BUITRAGO, Gustavo. Ñame: producción de semilla por biotecnología. Santa Fe de Bogotá, 2000. p. 33-39.

AMAT, Germán. Insectos terrestres. En : CURSO TEÓRICO-PRÁCTICO DE ENTOMOLOGÍA. 2002 : Santa Marta, Colombia. Ponencias y conclusiones de curso de entomología, 2002. p. 40.

AMMIRATO, P. Yams: Handbook of plant cell culture; crop species. London : Macmillan publishing company, 1984. V. 3, p. 327-354.

AYENSU, G. Anatomy of the monocotyledons VI Dioscoreales. Oxford : Oxford University Press, 1972. p. 182.

BIOBEST. Servicio fyto-diagnóstico de virosis horticolas. Sistemas biológicos. 2000. Available from internet :

<http://207.5.71.37/biobest/sp/producten/accessoires/fytodiagnoseservice.htm>

BOUSALEM, M; DALLLOT, S and GUYADER, S. The use of phylogenetic data to develop molecular tools for the detection and genotyping of yam mosaic virus. Potential application in molecular epidemiology. En: Journal of virological methods. No. 90, (may. 2000); p.25-36.

BRUNT, A; CRABTREE, K and DALLWITZ, M. Plant viruses on line: Description and list from the VIDE database. Research school of the Australian biological sciences national university, august 1996. Available from internet : <http://biology.anu.edu.au/group/MES/vide/>

BRUNT, A; JACKSON, G and FRISON, E. Técnica guidelines safe movement of yam germplasm. Roma (Italia) : Food and agriculture Organization of the United Nations, 1989. Available from internet:

<http://www.ctahr.hawaii.edu/adap2/information/pubs/rapidnyams.pdf>.

BRUNT, A. The general properties of Potyvirus: Microbiology and crop protection departments. Horticulture research international. En: Archives of virology. (1992); p. 3-16.

CONSEJERÍA DE SALUD. Servicio de información y evaluación sanitaria. Unidad estadística. Sevilla, España. 1998.

DÍAZ, G. Manejo integrado de pulgones: Control supervisado. Tim-bor Profesional, 1999. Available from internet:

<http://www.univarmexico.com/ftp/metamorf/metamorfosis20.pdf>.

FRENCH, Eduardo y HERBERT, Teddy. Métodos de investigación fitopatológicas. San José, Costa Rica. 1980. p. 215-227.

GAVIÑO, G; JUÁREZ, C y FIGUEROA, H. Técnicas biológicas selectas de laboratorio y de campo. México : Limusa, 1974. p. 167-177.

GIBBS, A and HARRISON, B. The history and scope of plant virology. En: Plant virology. (1976); p. 27.

GODOY, Carolina. Familia Cicadellidae. Instituto Nacional de Biodiversidad de Costa Rica. 1997. Available from internet :

<http://www.inbio.ac.cr/papers/insectoscr/Texto104.html>.

GUZMÁN, Mónica y FONTANILLA, Marta. Algunos virus vegetales y del ñame. En: En: GUZMÁN, Mónica y BUITRAGO, Gustavo. Ñame: producción de semilla por biotecnología. Santa Fe de Bogotá, 2000. p.71-101.

HIDALGO, Marta, Rossana et al. Dinámica poblacional de cicadélidos (Homoptera: Cicadellidae) en un agroecosistema cañero de Cuba. En: Biología tropical. Vol. 47, No. 3. (Mar. 1999). p. 13.

HUGHES, Jacqueline; DONGO, L and Ng, S. Diagnosis of Yam Viruses. En : International Institute of Tropical Agriculture(IITA). (1998), p. 4.

IITA. Yams (*Dioscorea spp*) : Root and Tuber Improvement Program. En : Archival report. (1993), p. 1-3.

INSTITUTO GEOGRAFICO AGUSTIN CODAZZI. Estudio general de suelos y zonificación de tierras. Departamento de Sucre. Ministerio de hacienda y crédito público. Santa Fe de Bogotá, 1998. p. 27-71.

LAVERDE, Alberto etal. Principios de control de malezas en Colombia. En : Manual de asistencia técnica. ICA. No 23 (1981); p. 173.

LINNAVUORI, Rauno. Contribución al conocimiento de la fauna colombiana de Cicadellidae. En: Agricultura tropical. (1968), p. 147-156.

MOHAMED, N and MANTELL, S. Incidence of virus symptoms in yam (*Dioscorea spp*) foliage in the common yealth Caribbean. En : Trop. Agric. (1976), p. 255-261.

MONTALDO, Alvaro. Cultivo de Raíces Tropicales : Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica. 1983. p.284.

MUMFORD, R y SEAL, S. 1997. Rapid single-tube inmunocapture RT-PCR for detection of two yam potyviruses. En : Journal of Virological Methods. No. 69. (Aug. 1997); p. 73-79.

NAULT, L and RODRIGUEZ, J. The leafhoppers and planthoppers. Newyork : A.wiley-interscience publication, 1995.

NAVAJAS, A; RUÍZ, J and LEGORBURU, F. Técnicas de detección de los virus del mosaico común (BCMV) y necrótico de la judía (BCMNV). 1999. Available from internet : <http://phaselieu.cesga.es/Diez.pdf>.

PAYARES, Iris. Evaluación de la incidencia de la virosis del ñame *Dioscorea alata* y *Dioscorea rotundata* en 5 municipios de la subregión sabana del departamento de Sucre. Sincelejo, 2002, 71-85 p. Trabajo de grado (Biólogo con énfasis en biotecnología). Universidad de Sucre. Facultad de educación y ciencias.

PINEDO, M. Estudio sobre un clon de pituca (*Coiocassia esculénta*) : Calidad de su harina en la panificación. Iquitos, Perú, 1975, 160p. Tesis (Ingeniero agrónomo). Universidad nacional de la amazonía peruana. Facultad de agronomía.

POSADA, L. Lista de insectos dañinos y otras plagas en Colombia. En : Boletín técnico. ICA. Nº 43 (sep. 1989); p. 662.

ROISTACHER, C. Granft-transmissible diseases of citrus : Handbook for detection and diagnosis. Rome. 1991.

SÁNCHEZ, M; AGÜERO, R y RIVERA, C. Plantas hospederas de los virus más importantes que infectan el melón, *Cucumis melo* (Cucurbitaceae) en Costa Rica. En : Biología tropical. Vol. 49, No. 1. (Mar. 2001). p. 10.

SANCHEZ, C y HERNÁNDEZ, L. Descripción de aspectos productivos, de postcosecha y comercialización del ñame en Córdoba, Sucre y Bolívar. 1998. Córdoba (Colombia): CORPOICA. 1998. Available from internet:

<http://www.turipana.org.co/name.htm>

STEPHENS, J. Yams-*Dioscorea spp.* Florida: Institute of food and agricultural sciences (UF/IFAS) for the people of the state of Florida, May 1994. Available from internet: <http://www.ctahr.hawaii.edu/adap2/information/pubs/rapidlyams.pdf>.

THOUVENEL, J y FAUQUET, C. Yam mosaic, a new potyvirus infecting *Dioscorea cayenensis* in the Ivory Coast. En : Ann. Appl. Biol. No. 11, (1979); p. 25-36.

THOUVENEL, J y FAUQUET, C. Yam mosaic virus AAB. Description of plant viruses. 1986. Available from internet: www.springerlink.com/index/UWY8JPYQR9E9K8NM.pdf.

THOUVENEL, J y FAUQUET, C. A review of the literature on Toxoptera citricida (Homoptera: Aphididae). En : Plant viral diseases in the Ivory Coast. No. 48, (1987); p. 228.

THRESH, J.M. The long range dispersal of plant viruses by arthropod vectors. En: Plant virology in sub-Saharan Africa. No. 32, (1983); p. 497-528.

ANEXOS

Anexo A. Cuadro de estadísticas de producción de plantas sintomáticas y asintomáticas por localidad.

Localidad	La Lucha		El Totumo		El Campano		Las Flores	
	Asintomáticas	Sintomáticas	Asintomáticas	Sintomáticas	Asintomáticas	Sintomáticas	Asintomáticas	Sintomáticas
Desviación standar	900.65	1172.83	521.25	379.61	280.3	351.72	1333.24	301.14
Error típico	249.79	217.79	157.16	94.9	77.4	67.69	401.99	80.48
Mediana	1.420	1600	1180	1630	460	280	440	425
Moda	1700	1600	S.m	1980	560	280	440	480
Rango	3.160	4720	1700	1220	900	1640	4680	1220
Curtosis	0.212	1.36	-0.5	-1.06	0.095	6.40	9.3	4.19
Coefficiente asintomático	0.59	1.13	-0.23	-0.40	0.76	2.37	2.99	1.5
Mínimo	220	120	320	880	180	40	40	40
Máximo	3380	4840	2020	2100	1080	1680	4720	1260
Número de Plantas	13	29	11	16	13	27	11	14

Mann-Whitney, $\alpha=0.5\%$

Anexo B. Cultivo de ñame *Dioscorea alata* cv. "oso". Mostrándose el asocio con otras plantas. Localidad, las Flores (Sampués).

