

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA

"ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE LA VIROSIS
DEL CARDAMOMO (*Elettaria cardamomum*)"



En el grado académico de
LICENCIADO EN CIENCIAS AGRICOLAS

Guatemala, Octubre de 1982

01
T(503)
C.3

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

Dr. Eduardo Meyer Maldonado

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO	Dr. Antonio A. Sandoval
Vocal 1o.	Ing. Agr. Oscar R. Leiva
Vocal 2o.	Ing. Agr. Gustavo Méndez
Vocal 3o.	Ing. Agr. Nestor F. Vargas
Vocal 4o.	Prof. Leonel Enrique Durán
Vocal 5o.	Prof. Francisco Muñoz N.
Secretario	Ing. Agr. Carlos R. Fernández

TRIBUNAL QUE PRACTICO EL EXAMEN

GENERAL PRIVADO

DECANO	Dr. Antonio A. Sandoval
Examinador	Ing. Agr. Lauriano Figueroa
Examinador	Ing. Agr. Salvador Castillo
Examinador	Ing. Agr. Jorge Mario Penados
Secretario	Ing. Agr. Carlos R. Fernández



FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1545

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Referencia	
Asunto	

22 de octubre de 1982

Doctor
Antonio Sandoval
Decano Fac. Agronomía

Respetable Doctor:

Por medio de la presente comunico a usted que por designación emanada de su despacho, procedí a asesorar la tesis al estudiante Franz Werner Hentze Penados, carnet No. 78-02306, sobre "ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE LA VIROSIS DEL CARDAMOMO (Elettaria cardamomun)".

La tesis constituye un valioso aporte de la Facultad de Agronomía de la USAC al conocimiento de esta virosis en el cultivo de cardamomo.

Esta información preliminar da lineamientos sobre el enfoque que debe darse en el futuro a las investigaciones que se hagan sobre esta virosis en nuestro país.

Considero que la misma llena la calidad científica que la Facultad exige como requisito para la obtención del título de Ingeniero Agrónomo, por lo que sugiero su aprobación.

Atentamente,

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Ing. Agr. MsC. Lauriano Figueroa
FITOPATOLOGO

Guatemala
Octubre de 1982

HONORABLE JUNTA DIRECTIVA

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

De conformidad a lo que establece la ley orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración el trabajo de tesis titulado:

"ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE LA VIROSIS
DEL CARDAMOMO (Elettaria cardamomum)"

Presentándolo como requisito previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo en el grado académico de Licenciado en Ciencias Agrícolas.

Deferentemente,



Br. Franz Werner Hentze Penados.

AGRADECIMIENTO

A mi asesor Ing. Agr. Lauriano Figueroa, por su interés y dedicación en la asesoría y colaboración para la elaboración de ésta tesis.

Al Ing. Enrique Arriola Torrebiarte, por el apoyo financiero y permitir el uso de la finca San Francisco Miramar (municipio de Coatepeque) para las pruebas de campo.

Al agrónomo Hugo García, por la colaboración prestada en los trabajos de campo.

Al Ing. Agr. Nery Lutman, por la información y materiales brindados.

A las autoridades de la Facultad de Agronomía y personal del Instituto de Investigaciones Agronómicas.

A mi amiga Silvia Ma. Móbil, por la ayuda prestada en la transcripción de éste trabajo.

TESIS QUE DEDICO

- A DIOS
- Con eterna gratitud a mi mejor maestra, amiga y compañera de toda la vida, a mi más grande amor MI MADRE
- Al amigo que tantas veces me ayudó MI PADRE
- A mis mejores amigos y compañeros en la vida MIS HERMANOS
- A mis profesores, amigos y compañeros de la Universidad
- A la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos
- A mí amada patria GUATEMALA

CONTENIDO

I.- INTRODUCCION Y REVISION DE LITERATURA	1
II.- OBJETIVOS	8
III.- MATERIALES Y METODOS	9
A- Naturaleza de la enfermedad	9
B- Transmisión	9
B.1 Transmisión mecánica	9
B.1.1 Transmisión por macerado de téjido enfermo	9
B.1.2 Transmisión por la cuchilla de corte	10
B.1.3 Transmisión por injerto	10
B.2 Transmisión a través del suelo	11
B.2.1 Transmisión por microorganismos del suelo	11
B.2.1.1 Transmisión por nemátodos	11
B.2.1.2 Transmisión por hongo	12
B.3 Residuos de cosecha enfermos como fuente de inóculo	12
B.4 El VMC en los exudados radiculares	13
B.5 Transmisión por semilla	13
C- Insecto Vector	13
D- Hospedante reservorio del VMC	14
E- Inclusiones Virales	15
F- Evaluación de Resistencia	15
IV.- RESULTADOS Y DISCUSION	17
A- Naturaleza de la enfermedad	17
B- Transmisión	17
B.1 Transmisión mecánica	17
B.2 Transmisión a través del suelo	19
B.2.1 Transmisión por microorganismos del suelo	19
B.3 Residuos de cosecha enfermos como fuente de inóculo	19
B.4 El VMC en los exudados radiculares	20
B.5 Transmisión por semilla	20
C- Insecto Vector	20
D- Hospedante reservorio del VMC	21
E- Inclusiones Virales	22
F- Evaluación de Resistencia	22

V.- CONCLUSIONES	24
VI.- RECOMENDACIONES	25
VII.-BIBLIOGRAFIA CITADA	27

RESUMEN

El cultivo del cardamomo (Elettaria cardamomum) en Guatemala se ve amenazado por la presencia del llamado mosaico del cardamomo. La presencia de ésta enfermedad en el país data desde 1974 pero la misma no se documentó sino hasta 1979.

La enfermedad se atribuye a un virus y se desconocía si la misma se transmitía mecánicamente: por el machete de poda ó por el roce entre plantas. Asimismo, algunos agricultores indicaban que plantas sanas se enfermaban al sembrarse en terrenos donde habían existido plantas enfermas, planteandose así la posibilidad de transmisión por nemátodos, hongos, residuos de cosecha enfermos ó por la semilla botánica. Se asocian a los áfidos como los principales vectores de la enfermedad en el campo. Además se sospecha de otros hospedantes diferentes al cardamomo que estando asociados al cultivo, podrían llegar a constituir una fuente de inóculo.

En enfermedades de naturaleza viral se han encontrado cuerpos de inclusión de forma y localización dentro de la célula característica, que pueden ser utilizados en el diagnóstico. En el país existen varios clones de cardamomo pero se desconoce su comportamiento ante ésta enfermedad.

Por la ausencia de investigación en los anteriores aspectos, se consideró necesario realizar el presente estudio preliminar sobre el mosaico del cardamomo con los siguientes objetivos:

- 1.- Confirmar la naturaleza viral de la enfermedad mosaico del cardamomo.
- 2.- Investigar si la enfermedad mosaico del cardamomo se transmite mecánicamente, a través del suelo ó de la semilla botánica.

- 3.- Determinar el insecto vector de la enfermedad dentro de la plantación.
- 4.- Buscar plantas hospedantes, diferentes al cardamomo, que puedan constituir reservorio de la enfermedad.
- 5.- Determinar si el virus mosaico del cardamomo (VMC) desarrolla inclusiones virales en cardamomo.
- 6.- Investigar si existe resistencia al VMC en cinco materiales genéticos de Cardamomo.

Para alcanzar los anteriores objetivos se hicieron observaciones con microscópio electrónico de material enfermo de cardamomo y jenjibre rojo (Alpinia purpurea), posible hospedante del VMC. Encontrándose en ambos, partículas virales de forma de varilla flexible y un tamaño aproximado de 600 nanómetros. Con esto se descarta que los nemátodos de los géneros Xiphinema y Longidorus puedan transmitir este virus en el campo, ya que éstos solo transmiten virus poliédricos, pero cabe la posibilidad que Trichodorus sí pueda transmitirlo, ya que éste género sí transmite virus tubulares.

No se logró la transmisión del VMC en ninguna de las siguientes pruebas: por frotación de savia infectiva, con cuchilla cortando tallos de plantas enfermas y luego plantas sanas, injertando material enfermo a plantas sanas, sembrando plantas sanas en suelo procedente de plantaciones infectadas, regando plantas sanas con los exudados radiculares de plantas enfermas contenidos en el agua de drenaje, sembrando semillas colectadas de plantas enfermas y sembrando semilla en suelo con material enfermo descompuesto.

Se encontró que el áfido (Pentalonia nigronervosa) es capaz de transmitir el VMC de cardamomo a cardamomo, pero no entre cardamomo y jenjibre rojo, por tratarse posiblemente

de variantes diferentes ó virus completamente diferentes. Se observó que el áfido P. nigronervosa tiene preferencia por colonizar en jengibre rojo y en dragón rojo. De los cinco materiales genéticos evaluados ninguno mostró resistencia al VMC. Tampoco fué factible observar inclusiones virales en cardamomo y jengibre rojo con mosaico, empleando las técnicas de coloración: Rosa de Bengala y Verde de metilo-Rodamina B.

I. INTRODUCCION Y REVISION DE LITERATURA

El cardamomo es un cultivo originario de la India Meridional, introducido en Guatemala por los años de 1912 a 1914. El primer material que vino fué reproducido en Alta Verapaz, donde encontró un medio propicio para su desarrollo (9). Años mas tarde el cultivo del Cardamomo se extendió por toda la costa sur occidental del país. Esta planta encuentra su ambiente óptimo en las zonas ecológicas comprendidas dentro de la tropical húmeda y la subtropical muy húmeda.

La Dirección General de Estadística consigna que el área sembrada de cardamomo en Guatemala, en 1979 era de aproximadamente 13,663 hectáreas. Ese mismo año se exportaron 45,800 quintales de cardamomo que representaban al país un ingreso de 30.8 millones de quetzales (8).

Por la importancia que tiene el cultivo del cardamomo en la costa sur occidental y en la zona norte (Alta Verapaz) de Guatemala y, por las repercusiones que tiene en la producción de cardamomo la presencia del llamado virus del mosaico, fué de vital importancia reconocer los factores que influyen en el desarrollo y diseminación de esta enfermedad.

Según entrevistas con algunos agricultores y profesionales relacionados con el cultivo del cardamomo, se cree que el virus del mosaico entró a Guatemala por los años de 1974 a 1975, estableciéndose inicialmente en la costa sur occidental del país. Pero no fué sino hasta marzo de 1979 cuando se documentó su presencia (4).

En recorridos por fincas de cardamomo en la costa sur de Guatemala, se encontraron lotes severamente afectados por una enfermedad, que por su sintomatología de moteado, mosaico, clorosis y aclaramiento de nervaduras semejaban a las causadas por virus. Algunos agricultores manifestaron que esta enfermedad les reduce notablemente el rendimiento del cultivo y muchos desconocen la etiología de la enfermedad. Otros agricultores mencionaron que después de arrancar las plantas enfermas y sembrar plantas de cardamomo sanas, estas se volvían a infectar, por lo que consideraron que el suelo podría ser una de las principales fuentes de inóculo. Algunos técnicos en cambio, han considerado que la cuchilla de corte o machete con que se lleva a cabo la poda o desbarejado en el cardamomo, constituye la principal fuente de diseminación de la enfermedad del mosaico.

Este estudio se realizó en la costa sur occidental del país, debido a que aquí la enfermedad se encuentra muy difundida, a tal extremo, que algunos agricultores han abandonado o cambiado las plantaciones de cardamomo por otro cultivo.

En general el panorama fitosanitario de los cultivos en Guatemala ha sido poco estudiado y en especial lo referente a las enfermedades de etiología viral, de las que se carece aún de más información. Debe tomarse rápidamente conciencia de las repercusiones de los virus de plantas sobre el rendimiento de los cultivos y aumentar el interés por el estudio y control de estos. Es por lo tanto necesario promover la investigación, la evaluación y la determinación de las causas y efectos que las enfermedades de las plantas están ocasionando en nuestra agricultura.

El Virus Mosaico del Cardamomo (VMC):

Actualmente se sabe de tres virus que afectan al cardamomo: el virus del mosaico estriado, el virus Foorkey y el virus mosaico común del cardamomo. De estos, los dos primeros afectan al cardamomo grande o mayor. De acuerdo con Smith (12), los virus del cardamomo que han sido más estudiados son los del mosaico estriado y Foorkey. En estos virus se han determinado las formas de transmisión, vectores, propiedades del virus en la savia, serología, etc. mientras que en el VMC hasta el momento, no se posee información sobre sus propiedades. Se cree que el VMC tiene alguna afinidad con los virus del mosaico estriado y Foorkey, pero hasta que no se disponga de mayor información deberá tomarse como diferente. Según el mismo autor el VMC parece no ser transmisible por savia, semilla o suelo.

El insecto vector del VMC es el áfido oscuro del banano Pentalonia nigronervosa, que también transmite la enfermedad Bunchy Top o Arrosetado de la platanera (causado por el banana virus 1 ó Musa virus 1). Este áfido es monoécico y anholocíclico, de multiplicación vivípara y partenogénica; el color básico es pardo y con esculturas típicas en el cuerpo. Las formas ápteras tienen antenas más pequeñas que el cuerpo (6).

En recorridos por plantaciones de cardamomo se han observado que los áfidos infestan inicialmente los brotes tiernos de cada tallo y hasta que las formas ápteras han formado colonia, empiezan a producirse áfidos alados que emigran a otras plantas.

Como el VMC es sistémico, al utilizar rizomas como medio de propagación estos constituyen un medio de diseminación seguro si proceden de plantas infectadas (7) y (11).

En estudios realizados con esta virósis en Guatemala se ha concluido que el VMC no se transmite por: semilla, mecánicamente, cúscuta, muchas especies de nemátodos y el áfido Myzus persicae. En cambio sí es transmitido por los áfidos: Pentalonia nigro-nervosa y Toxoptera sp. (3). Asimismo los estudios de microscopía electrónica han determinado que se trata de un virus de varilla flexible, forma característica de los no persistentes (14).

En cuanto a la transmisión a través del suelo, de la Cruz (2) manifiesta haber observado cierta relación entre la población de nemátodos, especialmente del género - Xiphinema y la presencia del virus en el cultivo del cardamomo.

Se han demostrado como nemátodos vectores de virus a los siguientes géneros del Orden Dorylaimida: Xiphinema, Longidorus, Trichodorus y Paratrichodorus. Sin embargo, Xiphinema no transmite virus tubulares o de varilla, forma característica del VMC.

Los virus transmitidos por nemátodos han sido clasificados de la siguiente manera: Netuvirus que son virus tubulares o de varilla transmitidos por nemátodos, mientras que los Nepovirus son virus poliédricos transmitidos por nemátodos. Estudios realizados en este campo, han demostrado que los Netuvirus solamente son transmitidos por los géneros Trichodorus y Paratrichodorus, y los Nepovirus por nemátodos de los géneros Xiphinema y Longidorus. También han sido implicados en la transmisión a través del suelo, más de cuatro géneros de hongos, todos ellos parásitos obligados unicelulares que forman esporas de resistencia, capaces de sobrevivir un largo tiempo en el suelo. Dos de estos géneros

Olpidium y Synchytrium, pertenecen al Orden Chitridiales y otros dos: Polymyxa y -- Spongospora pertenecen al Orden Plasmodiophorales (5). También se ha publicado que Phytium ultimum perteneciente al Orden Peronosporales, y que sí se puede cultivar in vitro, transmite virus. Por otra parte evidencias experimentales han demostrado la posibilidad de penetración de partículas virales a la planta a través de heridas naturales en la raíz, sin la intervención de vectores biológicos. Tal es el caso del virus mosaico del frijol sureño, que infecta plantas pequeñas de frijol que han sido sembradas en suelo contaminado de virus, sin la participación de algún vector biológico (13). Algunos virus -- también, tienen la capacidad de pasar de la planta a la solución del suelo a través de los exudados radiculares, como el virus del mosaico del tabaco (11).

Síntomas Macroscópicos:

Existen descritos dos tipos de síntomas en las enfermedades causadas por virus: a) los síntomas localizados y b) los síntomas sistémicos. Los síntomas localizados, como su nombre lo indica, son pequeñas lesiones cloróticas o necróticas localizadas en áreas específicas de la planta; y los síntomas sistémicos son aquellos en los que el virus se transloca dentro de la planta, por lo que el desarrollo de la enfermedad está generalizado en las diferentes partes de la planta afectada. Entre las formas más comunes de síntomas sistémicos están los achaparramientos, los patrones de mosaico, amarillamientos, necrosis y crecimientos anormales (11).

Enfermedad Causada por el VMC:

El primer síntoma de la infección es el desarrollo de una clorosis generalizada en

la hoja, con franjas delgadas alternando con franjas de tejido verde oscuro sobre su superficie. Estas franjas son paralelas unas a otras desde la nervadura central de la hoja hasta el margen de la misma. Cuando la enfermedad está bien desarrollada las franjas de tejido verde se distribuyen uniformemente en toda la hoja, presentando un patrón de mosaico característico. En la naturaleza las plantas de cardamomo son susceptibles en todas sus fases de crecimiento y las plantas se deterioran rápidamente cuando se encuentran afectadas por el virus. Los brotes que se forman a partir de estas plantas son de tamaño reducido habiendo una reducción de la productividad en forma gradual seguida de la muerte. Muchas de estas plantas se marchitan y mueren antes de empezar a producir (12).

Según Flores (4), la enfermedad que actualmente azota al cultivo del cardamomo en la India, no es la misma que está afectando al cardamomo guatemalteco, ya que en la costa sur del país la enfermedad tiene menor virulencia. El mismo autor afirma que existe la tendencia en aquellas plantas afectadas por la enfermedad de encorvarse hacia el suelo, contrario a la planta normal que crece erecta.

Actualmente se están realizando estudios serológicos con el VMC en Guatemala, utilizando la técnica inmunosorbente enzima conjugada (ELISA). Esta técnica está siendo utilizada como la herramienta primordial en las investigaciones de: distribución del virus en la planta, concentración del patógeno en las diferentes partes de la planta, susceptibilidad varietal del cardamomo para determinar variedades resistentes, tolerantes ó susceptibles a la enfermedad y, determinación de otras plantas diferentes al cardamomo

que puedan servir como reservorio al VMC (14).

Efectos Citológicos:

El mayor efecto citológico de la infección viral, es el desarrollo de cuerpos de inclusión, visibles al microscopio de luz, en células infectadas. Estos cuerpos de inclusión fueron descubiertos a principios de siglo y crearon cierta confusión con el tiempo, pues algunos fitopatólogos erróneamente consideraron que estos cuerpos eran realmente parásitos, o un estado del ciclo de vida del parásito que causaba la enfermedad. Se han reconocido dos tipos de cuerpos de inclusión en el microscopio de luz: los cuerpos amorfos o cuerpos X y las inclusiones cristalinas. Sin embargo no todas las inclusiones intracelulares son de origen viral, existen estructuras citológicas normales, principalmente del tipo cristalino, que se han encontrado en plantas sanas y que anteriormente se habían confundido con inclusiones producidas por virus. Estudios sobre dichas inclusiones han mostrado que estos cuerpos están formados por cristales de proteína y no se ha detectado ADN (11).

La presencia de cuerpos de inclusión de origen viral, es en la actualidad una práctica de gran importancia en el diagnóstico de enfermedades de etiología viral. Las inclusiones intracelulares son más evidentes en la epidermis y en los pelos de las hojas.

En relación al control, se indica la existencia de un producto selectivo llamado Croneton de acción sistémica, el cual es inofensivo a las abejas y otros insectos que ayudan a la polinización del cultivo, y en cambio es efectivo para el control de insectos vectores (1). Sin embargo, debe tenerse mucho cuidado con la utilización de plaguicidas químicos en el cultivo del cardamomo pues su polinización depende casi completamente de insectos.

Además deben considerarse las implicaciones que podría tener la utilización de pesticidas en el agroecosistema cardamomero.

II. OBJETIVOS

- A.- Confirmar la naturaleza viral de la enfermedad mosaico del cardamomo.
- B.- Investigar si la enfermedad mosaico del cardamomo se transmite mecánicamente, a través del suelo o la semilla.
- C.- Determinar el insecto vector de la enfermedad dentro de la plantación.
- D.- Buscar plantas hospedantes, diferentes al cardamomo, que puedan constituir reservorio de la enfermedad.
- E.- Determinar si el VMC desarrolla inclusiones virales en cardamomo.
- F.- Investigar si existe resistencia al mosaico en cinco materiales genéticos de cardamomo.

III. MATERIALES Y METODOS

A.- NATURALEZA DE LA ENFERMEDAD:

El objetivo de esta práctica fué el de determinar la presencia, forma y tamaño de la partícula viral que actualmente afecta al cultivo del cardamomo. Debido a que en Guatemala no poseemos aún un microscopio electrónico en funcionamiento, se llevaron muestras de hojas enfermas con el mosaico al laboratorio del Centro de Fitopatología del Colegio de Postgraduados de Chapingo, México. Utilizando la técnica de tinción negativa con ácido fosfotúngstico al 1%. La dimensión de las partículas virales del mosaico del cardamomo y mosaico del jengibre rojo se determinó, en el primer caso, con muy pocas partículas debido a la baja concentración del VMC en los tejidos de hojas enfermas, y en el segundo caso se midieron solamente diez partículas.

B.- TRANSMISION:

B.1. Transmisión Mecánica:

B.1.1. Transmisión por Macerados de Tejido Enfermo:

Esta prueba se llevó a cabo en el invernadero de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos, de la siguiente manera: se efectuó un macerado de hojas enfermas con el VMC en un mortero conteniendo una solución amortiguadora de fosfato ácido de potasio al 1%, en proporción de 10 ml. de solución por cada gramo de hoja enferma. Extracto de savia infectiva se frotó con un algodón sobre las hojas de cinco plantas sanas previamente espolvoreadas con un abrasivo (vidrio

molido), lavándolas luego con agua destilada. Para el testigo se efectuó el mismo proceso pero excluyendo el macerado de hojas enfermas en la solución. Se observaron resultados durante los cuatro meses siguientes. Esta prueba se llevó a cabo en octubre de 1981 y se repitió en febrero de 1982 con el objeto de desechar la posibilidad de que el virus se inhibiera o desactivara por efecto de las bajas temperaturas de octubre, noviembre y diciembre.

B.1.2- Transmisión por la Cuchilla de Corte:

Para comprobar si era posible la transmisión del virus del mosaico en la poda ó desbarejado que se practica en el cultivo del cardamomo, se llevaron a cabo en el invernadero de la Facultad de Agronomía de la USAC, pruebas de transmisión con la cuchilla de corte. Tallos de plantas enfermas se cortaron con una cuchilla previamente desinfestada y en seguida con la misma cuchilla se cortó un tallo de cada una de cinco plantas o macollas sanas. Con otra cuchilla, no infestada, con el VMC, se cortó uno de los tallos de una planta sana, la que se utilizó como testigo. Estas plantas se mantuvieron en observación durante cinco meses para ver si presentaban los síntomas del VMC. La prueba se llevó a cabo en octubre de 1981 y se repitió en febrero de 1982.

B.1.3- Transmisión por Injerto:

La injertación es una técnica universal de transmisión de los virus porque casi todos los virus pueden ser transmitidos por injerto. Sin embargo la práctica está limitada para aquellas plantas que desarrollan el cuerpo secundario con tejidos de conducción dispuestos en forma cilíndrica, tales como coníferas y dicotiledoneas; y es

extremadamente difícil lograr un injerto en plantas monocotiledoneas, tales como el cardamomo. No obstante, la prueba de transmisión por injerto se llevó a cabo en cinco plantas de cardamomo sanas, a las cuales se les removi6 un trozo semi-cilíndrico de tallo de dos cms. de longitud, reemplazándolo luego por un parche similar proveniente de plantas de cardamomo viróticas. Se observaron resultados durante los cuatro meses siguientes. Esta prueba se llevó a cabo en octubre de 1981 y se repitió en febrero de 1982.

B.2- Transmisión a través del Suelo:

B.2.1- Transmisión por Microorganismos del Suelo:

Varios virus son transmitidos por microorganismos que habitan en el suelo. Se ha demostrado que hay dos tipos de vectores para los virus que se transmiten a través del suelo, esencialmente los nemátodos y los hongos.

B.2.1.1. Transmisión por Nemátodos:

Para determinar si los nemátodos asociados al cultivo del cardamomo en la - costa sur podrían estar involucrados en la transmisión del virus, se tomó suelo procedente de plantas enfermas y en el invernadero de la Facultad de Agronomía se sembró en el mismo, dos plantas o macollas sanas. Se observaron resultados cinco meses después. Con el objeto de determinar si estaban presentes los géneros de nemátodos que se han consignado en la literatura como vectores de virus, se hicieron extracciones de nemátodos tanto de raíces como de suelo procedentes de plantaciones con cardamomo enfermo. Los métodos de extracción utilizados fueron:

a) tamizado y centrifugado, y, b) embudos Baermann.

B.2.1.2- Transmisión por Hongos:

Simultáneamente a la prueba anterior y con el objeto de determinar si existía transmisión del VMC por los hongos presentes en el suelo, se tomó suelo colectado en plantaciones infectadas con el VMC y se secó a temperatura ambiente, esparciendo dicho suelo en una capa fina para su secado completo durante dos semanas, antes de plantar en él dos plantas sanas y susceptibles, con el fin de determinar si éstas se infectaban. La prueba se llevó a cabo en el invernadero de la Facultad de Agronomía, observándose resultados cinco meses después de la siembra en el suelo infestado.

B.3- Residuos de Cosecha Enfermos como Fuente de Inóculo:

Recientemente se ha comprobado que virus presentes en la solución del suelo pueden infectar ciertas especies de plantas, penetrando a éstas sin la ayuda y participación de otros vectores biológicos. Para determinar si podía haber infección con el VMC presente en la solución del suelo, por liberación de las partículas después de la descomposición del material enfermo, se sembraron cien semillas de cardamomo en cada tipo de suelo, donde previamente se había descompuesto suficiente material enfermo con el VMC. El material enfermo se descompuso en dos tipos de suelo: uno esterilizado y el otro con el complejo de microorganismos asociados al suelo y material enfermo descompuesto. Se observó si en el proceso de germinación y brotación de raíces el VMC era capaz de penetrar a la planta e infectarla. Las plantas se observaron durante cuatro meses.

B.4- El VMC en los Exudados Radiculares:

Con el objeto de determinar si el VMC podía pasar de la planta enferma a la solución del suelo por los exudados radiculares, e ingresar posteriormente a las plantas sanas, se sembraron plantas enfermas en suelo arenoso. Se regaron con una lámina de agua lo suficientemente grande, que lavara los exudados radiculares y drenara por el agujero inferior de la maceta. Se colectó el agua que drenaba por el orificio de drenaje de la maceta y con ella se regaron plantas sanas. Se esperó un período de cuatro meses para la aparición de resultados.

B.5- Transmisión por Semilla:

Algunos virus son transmitidos por la semilla proveniente de plantas enfermas ó viróticas. Para la determinación experimental de la transmisión por semilla, se recolectaron semillas producidas en plantas que presentaban los síntomas de la virosis antes de la floración, y se sembraron bajo condiciones especiales de germinación, en un suelo previamente desinfestado. Se sembraron cien semillas y luego de germinadas, se observó si se manifestaban los síntomas de la enfermedad durante un año. Además se hicieron observaciones en las fincas de cardamomo abandonadas donde los frutos habían caído al suelo y las semillas habían germinado.

C. INSECTO VECTOR:

En recorridos realizados por plantaciones de cardamomo, se detectó la presencia de un áfido o pulgón de color pardo oscuro, similar al descrito en la literatura como vector del VMC. Científicamente ha sido clasificado como Pentalonia nigronervosa.

Para determinar si este áfido era vector del VMC se llevaron a cabo las siguientes pruebas: sobre plantas de cardamomo enfermas con el VMC y encerradas en jaulas especiales, se hizo colonizar al insecto P. nigronervosa; después que el insecto se había reproducido en número suficiente, se trasladaron de 8 a 10 pulgones por planta a cinco plantas de cardamomo sanas también enjauladas. Estas plantas se mantuvieron en observación hasta la aparición de síntomas en las hojas terminales.

La identificación del insecto vector se hizo mediante claves taxonómicas y con la ayuda del personal del laboratorio de entomología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos.

D. HOSPEDANTES RESERVORIO DEL VMC:

En recorridos realizados en plantaciones de cardamomo, en búsqueda de plantas con síntomas de virosis se detectó la presencia de una planta diferente al cardamomo pero de la misma familia, que presentaba una sintomatología muy parecida a la observada en plantas de cardamomo infectadas con el VMC. Esta planta es conocida comúnmente como jengibre rojo y científicamente como Alpinia purpurea. Para comprobar si dicha planta constituye reservorio de virus y fuente de contaminación, se hicieron transmisiones con el áfido P. nigronervosa (reportado en la literatura como vector del VMC) y que se ha encontrado asociado a las plantaciones. Para la transmisión se hizo colonizar al áfido en plantas enfermas de cardamomo y jengibre rojo; luego se trasladaron de 8 a 10 pulgones por planta de las plantas enfermas a las plantas sanas. Las pruebas de transmisión llevadas a cabo fueron las siguientes:

- a) de cardamomo enfermo a jengibre rojo sano (3 plantas) y
- b) de jengibre rojo enfermo a cardamomo sano (3 plantas).

Las plantas inoculadas se observaron durante los cuatro meses siguientes.

La colonia de áfidos utilizados en las pruebas de transmisión se desarrolló en plantas de jengibre rojo y cardamomo sanas.

E.- INCLUSIONES VIRALES:

Una de las formas de caracterizar un virus es observar y estudiar las formaciones o inclusiones que el virus provoca dentro de las células afectadas. Para determinar si el VMC provoca inclusiones intracelulares, se hicieron cortes finos y se extrajeron capas de epidermis finas del envés de hojas enfermas y sanas, utilizando para esto, pinzas y hojas de afeitar. Las técnicas de coloración que se usaron para esta prueba fueron: a) Rosa de Bengala y b) Verde de Metilo-Rodamina B. Después de coloreadas las células de los tejidos, se hicieron observaciones bajo el microscopio de luz para determinar si el VMC causaba algunas desviaciones citoplásmicas en las células afectadas por la virosis del cardamomo.

F.- EVALUACION DE RESISTENCIA:

A raíz de la alarmante forma en que se ha extendido la epifitía por toda la costa sur occidental del país, la búsqueda de resistencia en el cultivo del cardamomo al virus del mosaico, es el mejor método de control con que podría frenarse al desarrollo y diseminación de ésta devastadora enfermedad. En el caso específico de Guatemala, no se habían reportado estudios sobre una posible resistencia o tolerancia al VMC en los diferentes clones que existen comercialmente. Esta prueba se llevó a cabo en cinco clones que existen comercialmente del cardamomo, considerados como muy promisorios para la costa sur evaluados bajo condiciones de campo en un lote experimental ubicado

en la Fca. San Francisco Miramar, municipio de Coatepeque. Se probó transmisión por insectos (P. nigronevosa) y por medio de injerto. La evaluación de resistencia al VMC se determinó mediante la aparición de síntomas de la enfermedad en los clones evaluados. El lote inoculado se mantuvo en observación durante los seis meses siguientes a la inoculación.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

A.- NATURALEZA DE LA ENFERMEDAD:

De las observaciones al microscopio electrónico se confirma que los agentes que causan las enfermedades mosaico del cardamomo y mosaico del jengibre rojo, son virus, cuyas partículas virales tienen forma de varilla flexible con un tamaño aproximado de 600 nanómetros, para ambos casos (Fig. 1).

B.- TRANSMISION:

B.1- Transmisión Mecánica:

El VMC no se transmitió en ninguna de las plantas evaluadas en las pruebas de transmisión por macerados de tejido enfermo y cuchilla de corte. Por lo que la práctica de poda (desvarejado) realizada en el cardamomo, no constituye un medio de disseminación del virus, mucho menos el simple roce entre plantas.

A pesar de no haberse logrado la transmisión del VMC por medios mecánicos, no se descarta la posibilidad de que exista transmisión mecánica si se hacen algunos cambios en los métodos y materiales, tales como: uso de carborundum en lugar de vidrio molido, uso de soluciones amortiguadoras con diferente pH y sustancias antioxidantes, efectos de luz y temperatura, etc.

En cuanto a la transmisión por injerto, ninguna de las 10 plantas injertadas en el invernadero de la Facultad de Agronomía de la USAC, ni de las 5 plantas injertadas en el campo, mostró los síntomas del VMC. La falta de éxito en la transmisión del VMC por injerto, podría deberse a la gran dificultad que existe en lograr injertos en plantas monocotiledoneas, pero cabe la posibilidad que la transmisión por éste medio, si se

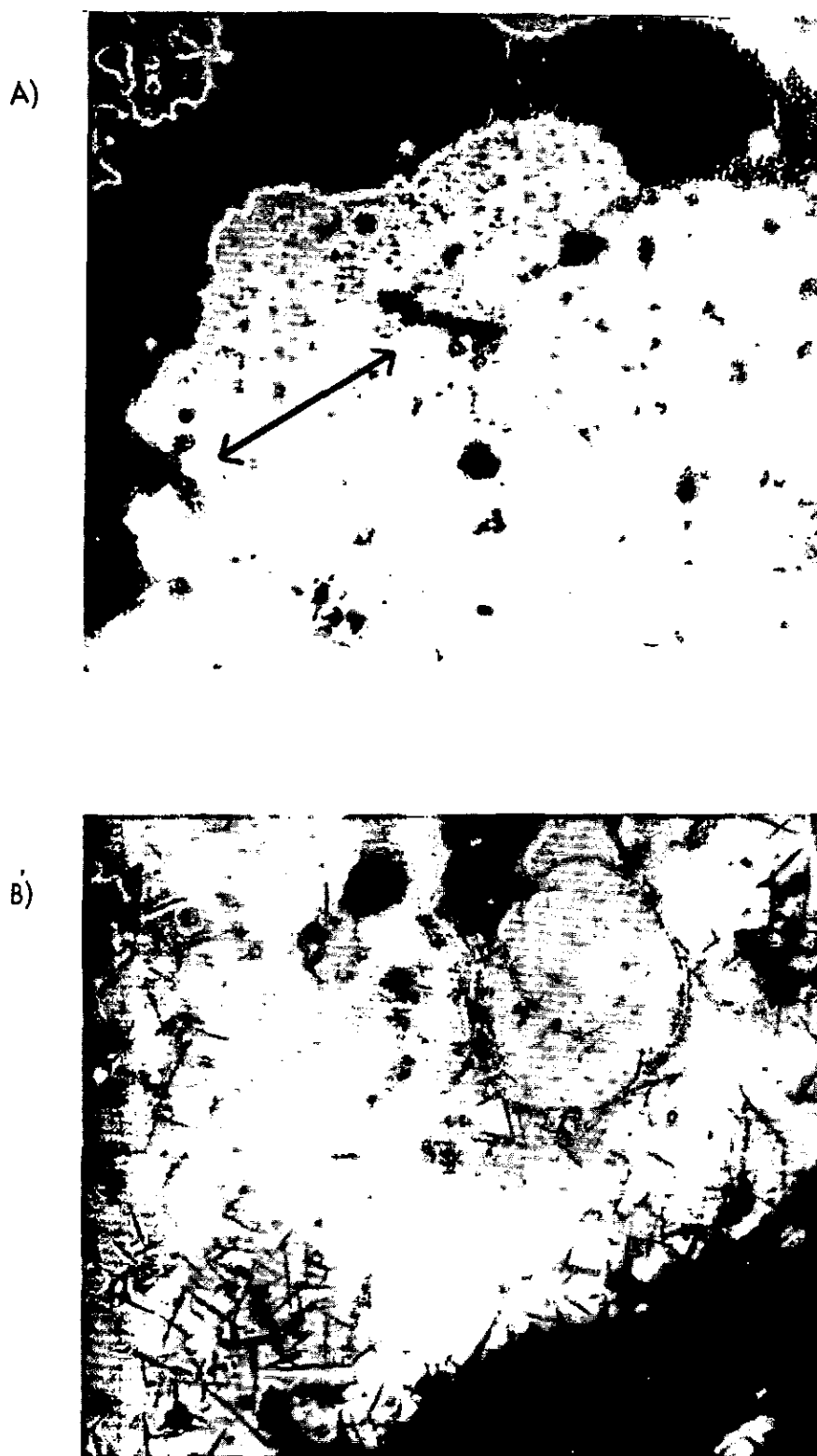


Fig. 1. Fotografías de partículas virales tomadas con microscopio electrónico contrastadas con ácido fosfotúngstico al 1% a 13,500 X. A) Partículas virales de cardamomo. B) partículas virales de jengibre rojo.

logre si el virus se encuentra en alguna dicotiledonea donde el injerto sea factible.

B.2 Transmisión a través del Suelo:

B.2.1- Transmisión por Microorganismos del Suelo:

Cinco meses después de haber sembrado las plantas de cardamomo sanas en el suelo proveniente de plantaciones enfermas e infestado de nemátodos, no aparecieron síntomas del VMC. Del análisis nematológico de suelo y raíces procedentes de algunas plantaciones infectadas con el VMC, no se encontraron individuos pertenecientes a los géneros reportados en la literatura como vectores del virus. Por la forma de la partícula habría cabido la posibilidad que el VMC fuera transmitido por Trichodorus que transmite virus tubulares o de varilla, no así los géneros Xiphinema y Longidorus que solamente pueden transmitir virus poliédricos.

En la prueba de transmisión por hongos tampoco aparecieron síntomas del VMC en las plantas de cardamomo evaluadas.

En la transmisión del VMC por microorganismos del suelo no se afirma en este trabajo que realmente no exista transmisión de la enfermedad por éstos, ya que no se han evaluado todos los microorganismos asociados a otras plantaciones de cardamomo no muestreadas ni las posibles relaciones que puedan darse entre estos para llevar a cabo la transmisión del VMC.

B.3- Residuos de Cosecha Enfermos como Fuente de Inóculo:

En ninguno de los dos lotes de plantas sembrados tanto en el suelo esterilizado como en el no esterilizado, y donde se habían descompuesto restos de cosecha con el VMC, resultaron plantas con los síntomas del mosaico. Por lo tanto, la incorpo-

ración de material enfermo no constituye ningún peligro en la diseminación del virus.

B.4- El VMC en los Exudados Radiculares:

Ninguna de las plantas regadas con el agua procedente del lavado de los exudados radiculares de plantas infectadas con el VMC, manifestó los síntomas del mosaico. Con esto se viene a confirmar que el suelo no constituye fuente de contaminación.

No se puede afirmar con plena seguridad que en las pruebas anteriores las plantas no estaban infectadas con el VMC, ya que la partícula viral pudo estar presente dentro de las plantas evaluadas pero en densidades tales que no eran capaces de desarrollar los síntomas clínicos de la enfermedad. Por no haber contado con antisueros específicos para el VMC, no se pudo aclarar esta interrogante.

B.5- Transmisión por Semilla:

De las semillas obtenidas de plantas enfermas y sembradas en el invernadero de la Facultad de Agronomía germinó el 75% pero ninguna de las plántulas mostró los síntomas del VMC. Además en las plantaciones de cardamomo donde las semillas cayeron al suelo y germinaron, tampoco se observaron plantitas afectadas por el VMC. Esto viene a evidenciar que este virus no se transmite a través de la semilla botánica, resultados que coinciden con los reportados por Smith (12) y Dimitman (3).

C.- INSECTO VECTOR:

El pulgón que se encontró asociado a las plantaciones de cardamomo fué clasificado como Pentalonia nigronervosa, citado en la literatura como vector de la enfermedad causada por el VMC. Debe mencionarse que en algunas plantaciones de cardamomo no se encontró al áfido directamente en las plantas de cardamomo, y en

cambio sí se le encontró colonizando plantas de la especie Dracaena cordilina t., usada como cerco y para delimitar lotes en algunas fincas. De la prueba de transmisión con áfidos, el 100% de las plantas inoculadas manifestó los síntomas de la enfermedad VMC, síntomas que fueron evidentes cincuenta días después de la inoculación.

El hecho de no haber encontrado en forma abundante a P. nigronevosa en plantas de cardamomo y haber transmitido el virus en las pruebas de invernadero de cardamomo enfermo a cardamomo sano, viene a confirmar que éstos áfidos juegan un papel muy importante en la transmisión del virus dentro de una plantación ya que al no quedarse colonizando en cada planta donde prueba, se estará trasladando constantemente y con ello estará diseminando la enfermedad.

D.- HOSPEDANTES RESERVORIO DEL VMC:

Sintomatológicamente la enfermedad que presentaba el jengibre rojo (Alpinia purpurea) fué la que mayores evidencias presentó de tratarse de la misma enfermedad, pero en ninguna de las pruebas de transmisión de jengibre rojo enfermo a cardamomo sano y de cardamomo enfermo a jengibre rojo sano se logró transmitir la enfermedad, ya que ninguna de las plantas inoculadas presentó síntomas después de cuatro meses de observación. En cambio las observaciones al microscópio electrónico de material enfermo de Alpinia purpurea revelaron partículas de forma y tamaño similares a las observadas en cardamomo enfermo con el VMC (Fig. 1). Esto plantea la posibilidad de que se trate del mismo virus pero variantes diferentes o de un virus completamente diferente; lo que tendrá que confirmarse con pruebas serológicas específicas para cada variante del virus. Pero si se puede afirmar que A. purpurea no es reservorio del

cual P. nigranervosa pueda adquirir y transmitir el VMC. No se descarta la posibilidad que existan malezas asociadas al cultivo que sin manifestar síntomas sean portadoras del VMC, situación que puede comprobarse con técnicas serológicas ó realizando pruebas de adquisición y transmisión del virus utilizando áfidos.

E.- INCLUSIONES VIRALES:

En las dos técnicas de coloración: Rosa de Bengala y Verde de Metilo-Rodamina B, se observaron inclusiones intracelulares de tipo cristalino, tanto en téjido enfermo como en téjido sano de cardamomo. Como testigo se observó téjido sano y enfermo sin utilizar colorantes, lo que permitió nuevamente observar la gran cantidad de cristales que existen en los téjidos celulares del envés de las hojas de cardamomo. El análisis y observación al microscópio de luz de los colorantes y el agua utilizados, permitió determinar que no existe relación entre los cristales de los colorantes y los cristales de los téjidos observados.

Estos resultados permiten definir a los cuerpos cristalinos observados en el cardamomo, como formaciones de origen natural y no viral. Sin embargo, Tejada (14) publicó la existencia de inclusiones virales observadas al microscópio electrónico, lo que hace posible que dichas inclusiones virales sean observables bajo otras técnicas de coloración, diferentes a las utilizadas en esta prueba.

F.- EVALUACION DE RESISTENCIA:

Seis meses después de haber inoculado los cinco clones o materiales genéticos que constituyeron el lote experimental, todas las plantas mostraron los síntomas causados por el VMC. No obstante, se han observado dentro de plantaciones completa-

mente infectadas, plantas de cardamomo aparentemente sanas que probablemente puedan ser resistentes, tolerantes ó haber escapado a la infección del VMC, extremo que deberá confirmarse utilizando pruebas serológicas.

V. CONCLUSIONES

- 1.- El agente causal de la enfermedad mosaico del cardamomo es un virus de varilla flexible, con un tamaño aproximado de 600 nanómetros, similar al virus que causa el mosaico en Alpinia purpurea.
- 2.- El VMC no se transmite por macerados de tejido enfermo ni por la cuchilla de corte.
- 3.- El VMC no se transmite por injerto de Cardamomo a Cardamomo.
- 4.- El VMC no es transmitido por muchos microorganismos del suelo, no es capaz de penetrar a la planta del cardamomo por las raíces, y tampoco se transmite por la semilla botánica.
- 5.- El insecto vector del VMC es el áfido oscuro Pentalonia nigronervosa.
- 6.- El insecto vector P. nigronervosa tiene preferencia para alimentarse y colonizar en plantas de jengibre rojo (Alpinia purpurea) y dragón rojo (Dracaena cordiline t.), pero no así en cardamomo.
- 7.- El virus que causa la sintomatología de mosaico en jengibre rojo no se logró transmitir con P. nigronervosa de jengibre rojo enfermo a cardamomo sano.
- 8.- Las inclusiones cristalinas presentes en las células de algunos tejidos de la planta de cardamomo, son de origen natural y no viral. No se observaron inclusiones virales con las técnicas de coloración Rosa de Bengala y Verde de Metilo-Rodamina B.
- 9.- No se encontró resistencia al VMC en los cinco clones ó materiales genéticos evaluados. Todos presentaron los síntomas de la virosis después de la inoculación.

VI. RECOMENDACIONES

- 1.- Evitar la reproducción del cardamomo a nivel comercial por medio de rizomas si hay presencia del VMC en la plantación, excepto cuando las plantas presenten una demostrada resistencia a la enfermedad.
- 2.- Mantener en constante observación las plantaciones de cardamomo sanas y eliminar las plantas que aparezcan infectadas con el VMC para evitar la diseminación de la enfermedad.
- 3.- Eliminar el Dragón rojo y jenjibre rojo de las plantaciones de cardamomo ya que son buenos hospedantes para la crianza de áfidos vectores del VMC; ó bien utilizarlos como cultivo trampa para eliminar a los áfidos vectores.
- 4.- Detectar, recopilar y evaluar las plantas de cardamomo que presenten una aparente resistencia al VMC dentro de plantaciones infectadas, y determinar en las mismas la presencia del virus utilizando antisueros específicos a la variante presente en la plantación.
- 5.- Utilizar antisueros en la búsqueda de otras plantas asociadas a los agroecosistemas cardamomeros que puedan constituir reservorios del virus sin manifestar los síntomas.
- 6.- Evaluar el polen de la planta de cardamomo como medio de transmisión del VMC.
- 7.- Colectar, reproducir y evaluar a otros insectos asociados al cultivo del cardamomo, en la transmisión del VMC.
- 8.- Continuar los estudios de microscopía de luz utilizando otras técnicas de coloración en la búsqueda de inclusiones de origen viral.

- 9.- Hacer estudios más específicos sobre la transmisión mecánica del VMC, tanto en Cardamomo como en otras plantas asociadas al cultivo del cardamomo.
- 10.- Estudiar el ciclo de vida del insecto vector P. nigronevosa en el cultivo del cardamomo y detectar sus enemigos naturales (hongos, parásitos, predadores, etc.), con el fin de desarrollar una técnica adecuada de control para no provocar el desbalance ecológico que podría derivarse del uso de pesticidas en el agroecosistema cardamomero donde se ha comprobado que la polinización es llevada a cabo por insectos.
- 11.- Mientras no se cuente con materiales genéticos resistentes conviene buscar técnicas que retracen el desarrollo de la epifitía o minimicen el efecto de la enfermedad, de manera que se prolongue la vida productiva de la plantación, dentro del rango de rentabilidad deseado, aún con la virosis.

VII. BIBLIOGRAFIA CITADA

- 1.- BAYER, INFORMACION TECNICA. Cultivo del cardamomo. Guatemala, mayo de 1978. Circular No. 16.
- 2.- CRUZ, H. A. DE LA. Identificación de géneros de nemátodos fitoparasíticos, su distribución general en almácigo y plantilla de cardamomo (Elettaria cardamomum) y su efecto sobre las plantas en condiciones de invernadero. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Agronomía, 1979.
- 3.- DIMITMAN, J. E. An aphid transmitted virus of cardamom in Guatemala. Phytopathology Abstracts. 71:104. 1981.
- 4.- FLORES, M. A. El mosaico del cardamomo una amenaza para el cultivo; deben tomarse las medidas para su control y limitar su difusión. Boletín Técnico Anacafé (Guatemala) No 1:8-9. Marzo 1979.
- 5.- FRENCH, E. R. y HEBERT T. T. Métodos de investigación fitopatológica. San José, Costa Rica, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA, 1980. pp. 212-275. (Serie: Libros y Materiales Educativos, No. 43).
- 6.- FROHLICH, G. y RODEWALD, W. Enfermedades y plagas de las plantas tropicales, descripción y lucha. Trad. del inglés por Gertraude Bayo. México, D.F., UTEHA, 1970. pp. 34-35.
- 7.- GONZALEZ, L. C. Introducción a la fitopatología. Costa Rica, San José, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA, 1977. p. 148. (Serie: Libros y Materiales Educativos, No. 32).

- 8.- GUATEMALA. BANCO DE GUATEMALA. El cultivo del cardamomo en Guatemala. Informe Económico. 26:1-40. Abr-Sept, 1979.
- 9.- GUATEMALA. INSTITUTO TECNICO DE CAPACITACION Y PRODUCTIVIDAD. DIVISION AGROPECUARIA. Apuntes sobre cardamomo, Guatemala, 1980. p. 50.
- 10.- MANJARREZ M. P. Estudio preliminar sobre la virosis del haba, (Vicia faba) en el estado de México. Tesis Mag. Sci., C. P. Chapingo, México, 1979. p. 64.
- 11.- MATTHEWS, R. E. Plant virology. New York, Academic Press, 1970. p. 778.
- 12.- SMITH, K. M. A textbook of plant diseases. 3 ed. London, Longman, 1972. pp. 133-135.
- 13.- TEAKLE, D. S. y MORRIS, T. J. Transmission of southern bean mosaic virus from soil to bean seeds. Plant Disease. 65:599-600. July, 1981.
- 14.- TEJADA, J. R. La técnica inmunosorbente enzima conjugada (Elisa) en el diagnóstico del virus del mosaico del cardamomo. Revista cafetalera No. 219: 19-23. Junio de 1982.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1545

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Referencia

Asunto

"IMPRIMASE"



Oscar Rene Leiva Ruano
ING. AGR. OSCAR RENE LEIVA RUANO
~~DECANO EN FUNCIONES~~

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central
Sección de Tesis