

LITERATURA CITADA

- ALAMOS, P., BEHRENS, H., ACEVEDO, E., LÓPEZ, A., y PALMA, T. 1967. Relaciones suelo-fósforo en suelos derivados de cenizas volcánicas. *Agricultura Técnica* (Chile). 27 (3): 120-129.
- APPELT, H. 1974. Interactions between organic compounds, minerals and ions in volcanic ash derived soil. Ph. D. Dissertation. University of California Riverside. U.S.A.
- and SCHALSCHA, E. B. 1970. Effect of added phosphate on the inorganic phosphorus fractions of soils derived from volcanic ash. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 34: 509-602.
- CAIOZZI, M., PEIRANO, P., RAUCH, E. and ZUNINO, H. 1968. Effect of seaweed on the levels of available phosphorus and nitrogen in a calcareous soil. *Agronomy Journal*, 60: 324-326.
- FLAIG, W. 1970. Organic compounds in soil. *Soil Sci.* 111: 19-33.
- GONZÁLEZ, C. y BÁEZ, M. 1972. Método de determinación de fósforo en tejidos vegetales. *Agrochimica*. 16: 342-344.
- GUTNIK, V., BALCAR, J., BEHRENS, H. y ACEVEDO, E. 1967. Influencia del pH sobre la fijación de fósforo en suelos derivados de cenizas volcánicas. *Agricultura Técnica* (Chile). 27 (4): 141-143.
- LACHICA, M., RECALDE, L. y ESTEBAN, E. 1965. Análisis foliar. Métodos analíticos utilizados en la Estación Experimental del Zaidín. *Anales Agrobiología y Edafología*. 24: 589-603.
- MARCHANT, P. 1966. Estudio de los niveles de fósforo en un sistema constituido por suelo calcáreo y alga enriquecida en fósforo. *Anales Facultad de Química y Farmacia*, Vol. XVIII: 153-158.
- MARTIN, J. P. and HAIDER, K. 1970. Microbial activity in relation soil humus formation. *Soil Sci.* 111: 54-63.
- RAUCH, E. 1965. Influencia de algas marinas sobre los niveles de fósforo y nitrógeno disponible en un suelo calcáreo. *Anales de la Facultad de Química y Farmacia*. Vol. XVII: 188-195.
- THUMANN, C. 1970. Fósforo orgánico y fracciones de fósforo en suelos derivados de cenizas volcánicas. Universidad de Chile. (Tesis Facultad de Química y Farmacia).
- ZUNINO, H., AGUILERA, M., PEIRANO, P. and CAIOZZI, M. 1973. P-uptake by wheat and resin-extractable phosphate after incubation in soil derived from volcanic ash. *Agronomy Journal*. 65: 747-748.
- , CAIOZZI, M., PEIRANO, P. and AGUILERA, M. 1970. Phosphate fixation in acidic soil derived from volcanic ash in Chile as influenced by the naturally occurring exchangeable cations. *Agrochimica*. 14: 557-564.
- , PEIRANO, P., AGUILERA, M., GONZÁLEZ, R. and CAIOZZI, M. 1971. Effect of seaweed on phosphorus availability of a soil derived from volcanic ash. *Agronomy Journal*. 63: 116-119.

Presencia del virus mosaico amarillo del frejol en Chile¹

Alicia Bruna de Tosso² y Cecilia Urbina de Vidal³

INTRODUCCION

Los frejoles representan un cultivo de gran importancia para Chile, desde el punto de vista de la superficie ocupada (70.000 ha) como también por ser un cultivo de exportación (30% de la producción).

¹Recepción originales: 2 de septiembre de 1975.

²Ing. Agr. M. S., Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), Casilla 4647, Santiago, Chile; actualmente Estación Experimental La Platina, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Casilla 5427, Santiago, Chile.

³Biólogo Celular. Laboratorio de Fitocitología. Dpto. de Biología Cel. y Genética. Sede Norte, Universidad de Chile, Casilla 6556, Santiago 4, Chile.

Entre los factores que inciden en la producción es de fundamental interés el estudio de las enfermedades causadas por virus. Hasta el año 1970, aproximadamente, se consideraba al "Mosaico común" la principal enfermedad de este cultivo. Sin embargo, a partir de esa fecha, una nueva enfermedad virosa comenzó a observarse en las siembras comerciales de frejol, la que ocasionaba serias pérdidas en la producción nacional.

Los síntomas principales consisten en manchas cloróticas y mosaico de las hojas, las que se vuelven cóncavas por el haz, a medida que

crecen. Se presenta una brotación anormal de las yemas, enanismo y deformación de las plantas. La madurez se atrasa y se produce menor cantidad de vainas. La primera mención del mosaico amarillo en nuestro país, efectuada por Beemster (1964), se basó en sintomatología observada ocasionalmente en el campo.

Posteriormente, Tollenaar (1972)¹ realizó algunas investigaciones preliminares en la zona de Chillán, las que consistieron básicamente en la transmisión del virus, mediante inoculación artificial, a un amplio rango de huéspedes diferenciales y a diversas variedades de frejol.

La literatura mundial proporciona amplios antecedentes sobre este virus. Originalmente, el mosaico amarillo del frejol fue descrito en los Estados Unidos por Pierce (1934). De acuerdo a Valiela (1969) se encuentra distribuido por Europa, Africa y América.

Este virus está compuesto por numerosas razas o strains. Thomas y Zaumeyer (1953) describieron un strain severo que causa síntomas graves en el frejol y que produce lesiones locales en *Nicotiana tabacum* L. y *Nicotiana rustica* L. Corbett (1958) ha descrito una enfermedad en el lupino causada por este virus. Schroeder y Provvidenti (1966) confirmaron que el mosaico de la arveja es una raza del mosaico amarillo del frejol. Nitzany y Cohen (1964) identificaron el agente causal de una seria enfermedad en habas en Israel como mosaico amarillo del frejol.

Recientemente, Bos *et al.* (1974) han identificado 12 virus aislados de arveja, haba, trébol rosado y lupino amarillo como razas de este virus.

Ante la grave incidencia de esta enfermedad en nuestro país el Instituto de Investigaciones Agropecuarias decidió efectuar un estudio exhaustivo de identificación y caracterización del agente causal, como primera etapa de un programa tendiente a obtener un control adecuado del mosaico amarillo del frejol a través del empleo de variedades resistentes.

MATERIALES Y METODOS

La investigación se realizó en la Estación Experimental La Platina del Instituto de Investigaciones Agropecuarias, y en el Laboratorio de Fitocitología del Depto. de Biología

Celular y Genética, Sede Norte, Universidad de Chile.

TRANSMISIÓN MECÁNICA A HUÉSPEDES DIFERENCIALES

El virus se aisló a partir de plantas de frejol proveniente de la zona de Chillán. El inóculo se obtuvo macerando hojas con síntomas virosos en presencia de un tampón fosfato 0,05 M pH 7,0. Las inoculaciones se realizaron en invernadero a temperatura de 21 a 25°C.

Se usaron los siguientes huéspedes diferenciales: *Glycine max* L. (soya), *Lens esculenta* Moench (lenteja), *Lupinus angustifolius* (lupino azul), *Melilotus indica* L., *Nicotiana glutinosa* L., *Nicotiana rustica* L., *Nicotiana tabacum* L. "White Burley", *Pisum sativum* L. (arveja) "Alaska", "Laxton", "Lincoln" y "Dark Skin Perf". *Trifolium incarnatum* L. (trébol encarnado), *Trifolium pratense* L. (trébol rosado), *Vicia faba* L. (haba), *Vigna sinensis* Endl. (caupí).

Además, se estudió la reacción de los siguientes cultivares de *Phaseolus vulgaris* (frejol): Arroz 3, Black Turtle, Blue Lake, Bountiful, Contender, Florida Belle, Full Measure, Great Northern U.I. 15, 16, 31 y 123, Idaho Refugee, Michelite, Pinto 114, Red Kidney, Stringless Green Refugee, Tendergreen, Topcrop.

PROPIEDADES FÍSICAS

Se determinó el Punto de Inactivación Termal (PIT) y el Punto de Dilución Final (PDF).

Para el PIT se usó savia proveniente de soya infectada, la que se colocó en capilares sellados en ambos extremos. Se sumergieron en agua caliente por 10 minutos, enfriándose rápidamente al retirarlos. El jugo se inoculó en plantas de frejol Red Kidney, usando 6 plantas por tratamiento. Las temperaturas usadas fueron: 45-50-55-60-65-70°C.

El PDF se determinó diluyendo la savia de soya infectada con agua destilada en las diluciones 1:10; 1:100; 1:1.000; 1:2.000; 1:3.000; 1:5.000; 1:10.000 y 1:100.000, las que se inocularon posteriormente en plantas de frejol Red Kidney, usando 6 plantas por tratamiento.

TRANSMISIÓN POR INSECTOS

Los insectos usados en este estudio corres-

¹Tollenaar, H. 1972. Comunicación personal e informe interno INIA.

pondieron a ejemplares *Myzus persicae* (Sulzer) (pulgón del duraznero), criados en plantas de *Brassica pekinensis* Rupr. (repollo chino) colocados en jaulas.

Se eligieron 100 áfidos ápteros, los que se sometieron a un ayuno de 4 horas con el fin de aumentar su capacidad de transmisión (Swenson, 1957).

Se usaron plantas de soya infectadas como fuente de inóculo y planta de fréjol Red Kidney como huésped indicador. Los áfidos permanecieron por 2 minutos alimentándose en las plantas de soya y luego se trasladaron a las indicadoras en grupos de 5 insectos por planta. A las 20 horas se pulverizó con un insecticida sistémico para eliminar los insectos.

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

Plantas de *Glycine max* L. y *Phaseolus vulgaris* L. infectadas y sanas fueron sometidas a técnicas de microscopia electrónica en corte fino y tinción negativa.

Corte Fino.

Trozos de hojas, incluyendo lámina y pecíolo fueron fijadas en glutaraldehído al 6% a pH 6,6 en tampón fosfato 0,15 M durante 8 horas a 4°C. Después de lavados en tampón fosfato 0,2 M al mismo pH fueron post-fijadas en tetróxido de osmio al 2% durante 4 horas a temperatura ambiente. El material fue incluido en Araldita 502, luego de ser deshidratado gradualmente en etanol y finalmente en acetona. Cortes de 20 a 50 nm fueron montados en grillas desnudas y sometidos a tinción doble de uranilo y plomo, y observados en un microscopio electrónico Siemens Elmiskop I-A.

Tinción Negativa.

Jugo de hoja obtenido por presión y colocado sobre grillas de 300 mesh con film de Parlodión fue sometido a tinción negativa con ácido fosfotúngstico al 2% a pH 7,0 observándose luego en un microscopio electrónico Siemens Elmiskop I-A.

Partículas de virus separadas por el método de Huttinga (1973) fueron sometidas a observación en tinción negativa con ácido fosfotúngstico al 2%.

RESULTADOS

Reacción en huéspedes diferenciales y en variedades de fréjol.

Los síntomas obtenidos en las distintas especies y variedades utilizadas son los siguientes:

Glycine max L. Puntos necróticos locales seguidos por clorosis, mosaico amarillo intenso, descoloración de los bordes de las hojas y reducción del tamaño de la planta.

Lens esculenta Moench. Mosaico amarillo suave y marchitez total de las plantas.

Lupinus angustifolius. Puntos necróticos locales, necrosis sistémica de nervaduras, mosaico amarillo suave con formación de hojas apicales pequeñas y deformadas, enanismo y marchitez total de la planta.

Melilotus indica L. Lesiones cloróticas locales, mosaico amarillo, hojas apicales pequeñas, profundas y deformadas.

Pisum sativum L. "Alaska", "Laxton" y "Lincoln". Aclaramiento de nervaduras, mosaico suave, marchitez y muerte. En algunos casos, la variedad Lincoln presentó un mosaico amarillo típico.

Trifolium incarnatum L. Aclaramiento de nervaduras, clorosis, mosaico amarillo suave y amarillez de los bordes de las hojas.

Trifolium pratense L. Mosaico leve.

Vicia faba L. "Windsor". Lesiones locales necróticas, necrosis del tallo y hojas y mosaico apical.

No presentaron síntomas *Pisum sativum* L. "Perfection", *Nicotiana glutinosa* L., *Nicotiana tabacum* L., "White Burley", *Nicotiana rustica* L. y *Vigna sinensis* Endl.

Las variedades de fréjol inoculadas con el virus reaccionaron con distintos tipos de síntomas, que se clasificaron en tres grupos:

Grupo 1. Las variedades Black Turtle, Blue Lake, Bountiful, Contender, Florida Belle, Full Measure, Idaho Refugee, Kentucky, Wonder, Michelite, Red Kidney, Tender-

green y Topcrop, presentaron epinastia de las hojas basales seguido por necrosis sistémica de las nervaduras, mosaico suave y necrosis apical (top necrosis).

Grupo II. Las variedades Great Northern U.I. 15-16-23-123 mostraron epinastia de las hojas basales, lesiones locales necróticas, necrosis sistémica de nervaduras, enrollamiento de hojas y necrosis apical.

Grupo III. La variedad Stringless Green Refugee, presentó epinastia de hojas basales, mosaico amarillo intenso con encarrujamiento de hojas y formación de ampollas en la lámina.

Las variedades Arroz 3 y Pinto 114 no presentaron síntomas y el virus no pudo ser recuperado a partir de ellas.

— Propiedades Físicas

Punto de Inactivación Termal: Se determinó que el virus se inactiva entre 50 y 55°C.

Punto de Dilución Final: El virus fue in-

fectivo a la dilución 1 : 3.000, pero no a la dilución 1 : 5.000.

— Transmisión por Insectos

El virus fue transmitido en forma no persistente por el *Myzus persicae*, a 18 de las 20 plantas de frejol Red Kidney, obteniéndose un porcentaje de transmisión de 90%.

— Microscopia Electrónica

En corte fino se observó la presencia de estructuras densamente teñidas (I) que generalmente presentaban la forma de ruedas de rueca (Figura 1). Estas estructuras tienen un diámetro de 200-400 nm y se presentan en el citoplasma de células del mesófilo en las hojas y del parénquima en los pecíolos.

Junto a las figuras de rueda de rueca, se encontraron estructuras semejantes a varillas que medían entre 680 a 850 nm de largo (Figura 2). Estas varillas de 150 Å de diámetro, generalmente en paquetes (p) aparecían en relación directa con núcleos densos de RNA, dentro del citoplasma (CD).



Figura 1 — Inclusiones citoplasmáticas (I) en hoja de poroto Soya. Aumento: 66.000 x.

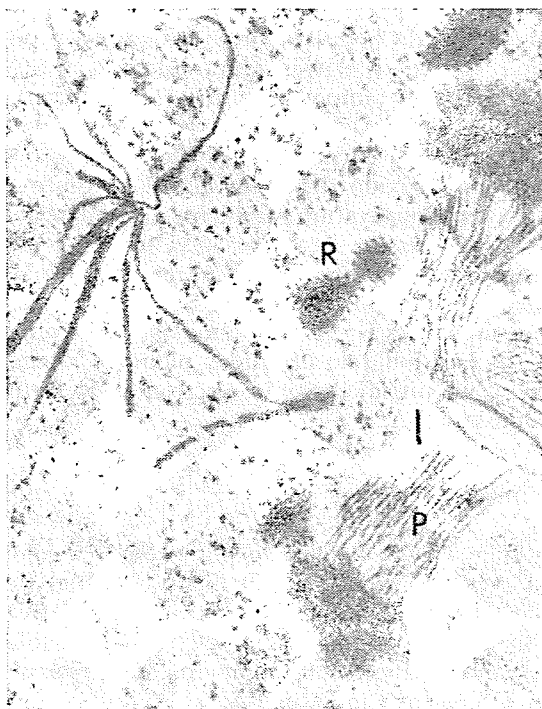


Figura 2 — Inclusiones virales (I) en paquetes, en citoplasma de *Phaseolus vulgaris*. Ribosomas (R) rodeando cuerpos densos. 66.000 x.



Figura 3 — Corte de hoja de poroto Soya. Cloroplasto (Cl); cuerpos densos (CD). 66.000 x.



Figura 4 — Tinción Negativa de virus aislados de poroto Soya. Varillas formando agregados laminares. 60.000 x.

En hojas, que presentaban ataque muy severo, especialmente en *Phaseolus vulgaris* L., las inclusiones virales en rueda de rueda llenaban el citoplasma casi en su totalidad, y en estas células los cloroplastos presentaban su morfología totalmente alterada (Figura 3).

Los virus aislados de hojas de *Glycine max* L., aparecen en tinción negativa como varillas que se asocian espontáneamente formando conglomerados lamelares, de estructura muy regular, que median 850 y 1.600 nm de largo (Figura 4).

DISCUSION

En base a la sintomatología observada, al rango de huéspedes diferenciales usados, a las propiedades físicas y a la longitud y morfología de las partículas virosas, resultados que han sido indicados anteriormente, se concluye que el virus en estudio corresponde al mosaico amarillo del frejol (bean yellow mosaic virus).

Respecto a la separación del virus en diversos strains, no existe un criterio uniforme entre los investigadores para su clasificación y es así como podemos encontrar que un

mismo strain recibe diferentes denominaciones según sea el autor que lo describe. Goodchild (1956) informa de dos strains del mosaico amarillo, denominados 1 y 2, y determina que el strain 1 es muy semejante al "strain tipo" de Grogan y Walker (1948) y al virus 2 de arveja de Zaumeyer y Wade (1936). El strain 2, a su vez, es similar al descrito por Hutton y Peak (1954) y por Pierce (1934).

El strain identificado en este estudio se caracteriza por causar síntomas de necrosis apical (top necrosis) en la mayoría de los cultivares de frejol, lo que concuerda con las observaciones de Thomas y Zaumeyer (1953) para el strain severo de mosaico amarillo y por Bos, Kowalska y Maat (1974) para los strains I y IIa de mosaico amarillo.

El punto de inactivación termal, entre 50 y 55°C, concuerda con aquel obtenido por Thomas y Zaumeyer (1953) para el strain severo, siendo el más bajo que se ha reportado para cualquiera de los strains conocidos.

Nuestro aislamiento se diferencia, sin embargo, del strain severo en que no infecta a *Nicotiana tabacum* L. ni a *Nicotiana rustica* L., infectando en cambio a los cultivares de frejol Great Northern U.I. 16-23-123. El hecho de que el cultivar Great Northern U.I. 123,

considerado como resistente al mosaico amarillo por la mayoría de los investigadores, haya sido susceptible a nuestro aislamiento está confirmado por las observaciones de Bos, Kowalska y Maat (1974) para el strain I del mosaico amarillo del frejol.

Los datos de la literatura, caracterizan a este virus con una longitud entre 795 y 840 nm (Bos, Kowalska y Maat, 1974), pero nuestros resultados indican que existe una amplia distribución de partículas que fluctúan entre 200

y 1.600 nm, presentando variaciones según la metodología aplicada. Creemos, sin embargo, que los resultados más fidedignos serían las longitudes obtenidas por medición del virus aislado de la planta donde esta diversidad se restringe a dos dimensiones, 850 y 1.600 nm, que podrían representar, la primera, al virión y la segunda a un dímero del mismo. La diversidad de longitudes que es más notoria en las preparaciones de corte fino, podría explicarse por alteraciones estructurales inducidas (Langerberg y Schroeder, 1973).

RESUMEN

Se determinó y caracterizó el virus del mosaico amarillo del frejol, como el agente causal de una grave enfermedad que afecta los cultivos de frejol del país.

El diagnóstico se efectuó en base a síntomas en huéspedes diferenciales, propiedades físicas, transmisión por áfidos, morfología y tamaño de las partículas y en la observación de inclusiones virales en tejidos infectados.

El virus produce necrosis apical en la mayoría de los cultivares de frejol, tiene un temperatura de inactivación entre 50 y 55°C y un punto de dilución final entre 1 : 3.000 y 1 : 5.000. Es transmitido en forma no persistente por *Myzus persicae* (Sulzer). Las partículas del virus son alargadas y miden 850 nm en promedio.

Se observan inclusiones virales en forma de rueda de ruca en el tejido infectado de *Glycine max* (soya).

SUMMARY

OCURRENCE OF BEAN YELLOW MOSAIC VIRUS IN CHILE

Bean yellow mosaic virus was found to be the causal agent of a severe disease affecting commercial beans in Chile.

The diagnosis was based on differential host range, physical properties, aphid transmission, particle morphology and length and observation of virus inclusions in the infected plant tissue.

The virus produces top necrosis in most bean cultivars, the thermal inactivation point is between 50 and 55°C and the dilution end-point between 1 : 3000 and 1 : 5000.

The virus shows stylet-borne transmission by *Myzus persicae*. Flexuous rod-shaped particles are 850 nm. Pinwheel inclusions are found associated with infected tissue of *Glycine max* (soybean).

LITERATURA CITADA

- BEEMSTER, A. B. R. 1964. Enfermedades de virus de ciertos cultivos en Chile. FAO. Informe 1812.
- BOS, L. 1969. Inclusion bodies of bean yellow mosaic virus, some less known closely related viruses and beet mosaic virus. *Neth. J. Pl. Path.* 75: 137-143.
- . KOWALSKA, Cz. and MAAT, D. Z. 1974. The identification of bean mosaic, pea yellow mosaic and pea necrosis strains of bean yellow mosaic virus. *Neth. J. Pl. Path.* 80: 173-191.
- CORBETT, M. K. 1958. A virus disease of lupines caused by bean yellow mosaic virus. *Phytopathology*. 48: 86-91.
- GOODCHILD, D. J. 1956. Relationships of legume virus in Australia. I. Strains of bean yellow mosaic

- virus and pea mosaic virus. Aust. J. Biol. Sci. 9: 212-230.
- GROGAN, R. G. and WALKER, J. C. 1948. A pol-distorting strain of the yellow mosaic virus of bean. J. Agric. Res. 77: 301-314.
- HUTTINGA, H. 1973. Properties of virus of the potyvirus group. I. A simple method to purify bean yellow mosaic virus, pea mosaic virus, lettuce mosaic virus and potato virus Y. Neth. J. Pl. Path. 79: 125-129.
- HUTTON, E. M. and PEAK, J. W. 1954. Varietal reactions of *Trifolium subterraneum* L. to *Phaseolus virus* 2 Pierce. Aust. J. Agric. Res. 5: 598-607.
- LANGERBERG, W. and SCHROEDER, H. 1973. Electron microscopy of unstable inclusions induced in maize by maize dwarf mosaic virus. Phytopath. 63: 1066-1073.
- NITZANY, F. E. and COHEN, S. 1964. Virus affecting broad beans in Israel. Phytopath. mediterranea III: 1-8.
- PIERCE, W. H. 1934. Viroses of the bean. Phytopathology 24: 87-115.
- SCHROEDER, W. T. and PROVVIDENTI, R. 1966. Further evidence that common pea mosaic virus (PV2) is a strain of bean yellow mosaic virus (BV2). Pl. Dis. Repr. 50: 337-340.
- SWENSON, K. G. 1957. Transmission of bean yellow mosaic virus by aphids. J. Econ. Entomol. 50: 727-731.
- THOMAS, H. R. and ZAUMEYER, W. J. 1953. A strain of yellow bean mosaic virus producing local lesions on tobacco. Phytopathology 43: 11-15.
- VALIELA, M. V. F. 1969. Introducción a la fitopatología. 3ª Edición, Vol. I-Virus. Bs. As. Colección Científica INTA. 1011 p.
- ZAUMEYER, W. J. and WADE, B. L. 1936. Pea mosaic and its relation to other legume mosaic virus. J. Agric. Res. 53: 161-185.

Enraizamiento de estacas de vid. I. Capacidad natural de dos especies de *Vitis*, efecto de ubicación en el sarmiento y de época de recolección¹

Iván Muñoz H.² y Aurelio Villalobos P.³

INTRODUCCION

En general las estacas de la mayoría de los cultivares de *Vitis vinifera* producen fácilmente raíces adventicias, sin embargo, otras especies de vid como *Vitis champini* (Kasimatis y Lider, 1962) y la mayoría de los híbridos como por ejemplo Romulus (Villalobos, 1971) son de difícil arraigamiento.

Diversos factores internos de las estacas pueden afectar el enraizamiento. Loreti y Hartmann (1964) encontraron que la porción basal de la ramilla de olivo enraiza con mayor facilidad que la porción terminal. En

blueberry (O'Rourke, 1944) y en guindo (Hartmann y Brooks, 1958) se han encontrado resultados similares.

Fuera de la porción, la época del año en la cual se obtenga la estaca también tiene influencia. Hartmann y Loreti (1965), determinaron que en olivo, estacas con hoja colectada a fines de primavera-verano, enraizaron en mayor porcentaje que estacas tomadas a mitad de invierno.

En algunas especies difíciles de enraizar, las estacas herbáceas producen raíces adventicias con mayor facilidad que las leñosas (Hartmann y Brooks, 1958).

En este estudio se compara la capacidad natural de enraizamiento de dos especies de *Vitis* y su relación con la posición en el sarmiento y además, el efecto de la época de colección de estacas en la rizogénesis de un cultivar difícil de arraigar.

¹Parte de la Tesis de Iván Muñoz H., para optar al grado de Magister en Ciencias de la Universidad de Chile. Recepción originales: 1º de julio de 1975.

²Ing. Agr. M. S., Programa Frutales y Viñas, Estación Experimental La Platina, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Casilla 5427, Santiago, Chile.

³Ing. Agr. Ph. D., Programa Frutales y Viñas, Estación Experimental La Platina, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Casilla 5427, Santiago, Chile.