



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE POSTGRADO

**ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE VIRUS QUE AFECTAN AL
CILANTRO Y QUE SON TRANSMITIDOS POR ÁFIDOS EN
RINCONADA DE MAIPÚ**

Tesis para optar al Grado de Magister en Ciencias Agropecuarias, Mención
Sanidad Vegetal

PAULINA CAREVIC ELGUETA

Director de Tesis/AFE

Nicola Fiore

Tomislav Curkovic

Profesores consejeros

Marcela Esterio

Jaime Auger

Profesor Colaborador

Alan Zamorano

SANTIAGO - CHILE

2021

INTRODUCCIÓN

En Chile, La superficie nacional de hortalizas en la temporada 2020-2021 se estimó en 92.720 hectáreas, de las cuales 80.392 ha. Corresponden principalmente a producción de hortalizas frescas y 12.328 ha. a hortalizas de uso industrial (Muñoz, 2021). En el país, la mayor parte de la población vive en la zona central, elevando la demanda de productos frescos y concentrando el 75% de la superficie total dedicada a hortalizas (Boza *et al.*, 2019). La participación de pequeños productores es muy relevante en la horticultura nacional (Berdegué y Rojas, 2014) al ser proveedores importantes de frutas y hortalizas frescas, sobre todo a través de las ferias libres (Observatorio Feria Libre, 2013; Tejada, 2014).

Una de las hortalizas con mayor rango de distribución dentro del país es el cilantro (*Coriandrum sativum* L.), con una superficie nacional cultivada de 747,10 ha. según el censo Nacional Agropecuario (2007), en donde 728,57 ha. se cultivan al aire libre y 18,50 ha. bajo invernadero (Vega, 2012). Dentro de los patógenos que afectan a este cultivo destacan: *Pseudomonas syringae* pv. *coriandricola*, *Ramularia coriandris*, *Fusarium oxysporum*, *Helminthosporium* spp. y *Curvularia* spp., así como también las enfermedades causadas por virus (González *et al.*, 2017). Los virus afectan enormemente los rendimientos y calidad de sus hospederos, acortando su vida útil, y haciéndolos más susceptibles a otros agentes infecciosos (Cruzat y Montes, 2009). En Brasil y Yemen se reportaron dos virus que causan daño a este cultivo: *Celery mosaic virus* (CeMV) (Oliveira y Kitajima, 1981) y *Alfalfa mosaic virus* (AMV) (Alhubaishi *et al.*, 1987), respectivamente. Para el control se recomienda la eliminación de plantas con los primeros síntomas y realizar un adecuado manejo preventivo, monitoreando y controlando a sus vectores, ya que, una vez establecida la enfermedad es difícil su erradicación (González *et al.*, 2017). En virología la PCR es una de las técnicas preferentes de detección, por ser sensible y específica (Cruzat y Montes, 2009).

Durante el año 2019 en Chile, se identificaron varios virus en plantas de cilantro, siete de los cuales nunca habían sido reportados anteriormente en este cultivo. Estas plantas provinieron de huertos de pequeños productores, ubicados en la comuna de Maipú en la región Metropolitana, zona central de Chile. Se observaron diferentes síntomas asociados a las plantas, como brotes arrosado, hojas enrojecidas, amarillas y con mosaico. A raíz de esta situación, se decidió realizar un análisis genéticos por secuenciación masiva (Next Generation Sequencing: NGS), con el cual se identificaron los siguientes virus: *Beet mosaic virus* (BtMV) de la familia *Potyviridae* género *Potyvirus*, *Artichoke latent virus* (ArLV) y su variante genética *Ranunculus latent virus* (RaLV) también pertenecientes a *Potyviridae* pero del género *Macluravirus*, *Turnip yellow virus* (TuYV) y *Potato leafroll virus* (PLRV) de la familia *Luteoviridae*, ambos del género *Polerovirus*. Además, los análisis realizados permitieron obtener el genoma completo de otro *Potyvirus*, *Celery mosaic virus* (CeMV), conocido previamente por infectar a cilantro, logrando obtener la secuencia parcial del genoma de un *Umbravirus* (familia *Tombusviridae*), *Opium poppy mosaic virus* (OPMV).

El resultado más sorprendente involucró dos contigs largos con alta cobertura, que mostraron varias coincidencias de identidad con virus pertenecientes a la familia *Rhabdoviridae*; un supuesto *Cytorhabdovirus* de 14183 nt de largo y un supuesto *Nucleorhabdovirus* de 11705 nt de largo. En base a estos resultados, se diseñaron nuevos pares de partidores para la detección por RT-PCR de todos los virus mencionados. Los amplicones que se obtuvieron se eluyeron en geles de agarosa y se secuenciaron en Psomagen Inc (MD, EE.UU.), confirmando la detección. Las reconstrucciones filogenéticas de los genomas completos confirmaron la asociación con los genomas de referencia para virus conocidos y los virus recién descubiertos forman un clado monofilético con otras especies de los géneros *Cytorhabdovirus* y *Nucleorhabdovirus*.

Los áfidos y moscas blancas tienen la capacidad de transmitir el mayor número de especies de virus y esta transmisión puede ocurrir a plantas sanas de forma activa en segundos, horas o días (Gergerich y Dolja, 2006). Los áfidos son vectores del 35% de todos los virus vegetales descritos y del 50% de todos los virus transmitidos por insectos (Eigenbrode y Bosque-Pérez, 2016). Un vector animal puede transmitir un virus según diferentes modalidades. La modalidad se determina fundamentalmente averiguando lo siguiente: si el vector pierde o no el patógeno durante una muda; cual es el tiempo de alimentación necesario para adquirir e inocular el virus. En consideración de esto, la relación vector-virus se caracteriza por la adopción de una de estas modalidades de transmisión: no-persistente (pierde el virus después de una muda; adquiere y transmite en segundos a minutos), semipersistente (pierde el virus después de una muda; adquiere y transmite en horas a días) y persistente (no pierde el virus después de una muda; adquiere y transmite en días a semanas). La modalidad persistente a su vez se caracteriza por ser de tipo circulativa o propagativa. En el primer caso, el patógeno, desde el intestino es capaz de “circular” al interior del vector hasta llegar a las glándulas salivales. Con la modalidad persistente propagativa, además de lo anterior, el virus también se replica al interior de los tejidos del vector (Garrido, 2018). La transmisión no-persistente es típica de los virus pertenecientes al género *Potyvirus*, los cuales producen una proteína especial llamada “Helper Component” (HC-Pro) que actúa como adhesivo entre el estilete y los viriones (Pirone y Blanc, 1996). Un ejemplo de transmisión persistente circulativa, es típica de la casi totalidad de las especies virales pertenecientes a la familia *Luteoviridae*. Las partículas virales circulan en el vector, moviéndose a través de la pared intestinal hacia la cavidad corporal, pasando luego a las glándulas salivales. Tal proceso dura aproximadamente 12 horas (periodo de latencia) y solo al término del período de latencia, el virus es capaz de ser transmitido por el insecto en consecuencia de su actividad trófica (Gray y Gildow, 2003). La mayor parte de la literatura publicada se refiere a virus transmitidos por áfidos, lo que demuestra su predominio como vectores de virus (Eigenbrode y Bosque-Pérez, 2016).

Los rangos de hospedantes de cada virus son variables. La respuesta de una especie vegetal a la infección de un virus, depende de la susceptibilidad del hospedero, la agresividad del patógeno y las condiciones ambientales. La infección puede causar una enfermedad severa, hasta la muerte de la planta o puede ser asintomática. En algunos casos se observan mosaicos

y necrosis en las hojas de las plantas infectadas. Generalmente los virus colonizan gran parte o la totalidad de los tejidos de la planta, causando una infección sistémica (Gergerich y Dolja, 2006). Los virus tienen la capacidad de poder adaptarse a nuevos hospederos, ya que, es una propiedad biológica importante de la mayoría de los virus de ARN y, en el caso de infectar cultivos anuales, necesitan de hospederos alternativos para poder mantenerse en la naturaleza (Bedhomme *et al.*, 2012).

Debido a la gran cantidad de virus que co-infectan las plantas de cilantro en Chile, aún no ha sido posible asociar los síntomas con cada especie viral detectada. Tampoco ha sido posible identificar insectos vectores y plantas hospederas reservorios. De los virus que se encuentran en cilantro, se ha comprobado que el pulgón verde del duraznero, *Myzus persicae* (Sulzer), es capaz de transmitir de forma natural CeMV, BtMV, ArLV (RaLV), TuYV y PLRV. Incluso cuando este pulgón está muy diseminado en Chile, no se puede descartar que estos aislados virales hayan evolucionado para ser transmitidos de manera eficiente por otras especies de pulgones. Es por esto que en el presente estudio se identificaron potenciales insectos vectores y hospederos alternativos, que contribuyen a la diseminación de los virus detectados en el cultivo de cilantro.

HIPÓTESIS

Existen plantas reservorios de virus transmitidos por áfidos, asociadas al cultivo de cilantro en Rinconada de Maipú, región Metropolitana.

OBJETIVO GENERAL

Identificar morfológica y molecularmente a virus y áfidos asociados a plantas herbáceas, no cilantro, presentes en cultivos de cilantro en Rinconada de Maipú, región Metropolitana.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar morfológicamente especies de plantas herbáceas, no cilantro, con síntomas de virosis y a áfidos asociados, presentes en cultivos de cilantro en Rinconada de Maipú.
- Caracterizar molecularmente virus asociados a plantas herbáceas, no cilantro, con síntomas de virosis, presentes en cultivos de cilantro en Rinconada de Maipú.
- Caracterizar molecularmente virus asociados a áfidos encontrados en plantas herbáceas, no cilantro, con síntomas de virosis, presentes en cultivos de cilantro en Rinconada de Maipú.
- Caracterizar molecularmente especies de áfidos potenciales vectores de virus encontrados en plantas herbáceas, no cilantro, con síntomas de virosis, presentes en cultivos de cilantro en Rinconada de Maipú.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del estudio:

El estudio y los análisis se realizaron en las dependencias del Laboratorio de Fitovirología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, ubicado en la comuna de La Pintana, región Metropolitana.

Material biológico:

-20 plantas malezas asociadas al cultivo de cilantro con síntomas de virosis desde huertos ubicados en Rinconada de Maipú, región Metropolitana.

-10 plantas de cilantro con síntomas de virosis desde huertos ubicados en Rinconada de Maipú, región Metropolitana.

- 18 plantas de interés agronómico con síntomas de virosis desde huertos ubicados en Rinconada de Maipú, región Metropolitana.

- 29 colonias de áfidos (5-15 individuos/colonia) encontradas en plantas con síntomas de virosis, desde huertos ubicados en Rinconada de Maipú, región Metropolitana.

Tratamientos y diseño experimental

Etapa 1: Obtención e identificación de plantas e insectos: se colectaron en total 38 muestras de plantas con síntomas de virosis; 20 malezas asociadas al cultivo de cilantro, 10 plantas de cilantro y 8 plantas de interés agronómico presentes en el lugar. El muestreo se realizó en tres oportunidades, entre septiembre del 2020 y enero 2021. De estas plantas se colectaron colonias de áfidos presentes, 10 individuos aprox. por colonia para posteriores análisis.

Etapa 2: Análisis moleculares: se realizaron análisis moleculares por RT-PCR a plantas e insectos colectados para 9 virus: BtMV, TuYM, *Cytohabdovirus*, *Nucleohabdovirus*, OPMV, ArLV (RaLV), PLRV, CeMV, y AMV.

Procedimiento del análisis

1. Muestreo e identificación morfológica

a) Plantas

En las plantas colectadas se observaron síntomas asociables a la presencia de virus y/o se encontraron áfidos. Se tomaron fotografías para la identificación morfológica, se rotularon y se trasladaron al laboratorio. De cada planta se colectaron entre 5 a 15 áfidos (dependiendo de la época de muestreo) con el método de recolección de apaleo o de brotes vegetativos (en caso de presencia de colonias de áfidos). Los insectos se trasladaron vivos en frascos y recipientes rotulados. Se tomaron fotografías en lupa estereoscópica de individuos para identificación morfológica, luego se conservaron en tubos Eppendorf de 0,6 mL con alcohol al 70% para extracción y análisis. En base a fotografías que se tomaron en terreno y en lupa estereoscópica, se realizó la identificación morfológica. Para la identificación de plantas se utilizaron las caracterizaciones morfológicas descritas por Espinoza (1996), Hoffmann

(1998) y Fuentes *et al.* (2014), también se contó con el apoyo de la Prof. Verónica Díaz para su confirmación.

b) Áfidos

Para su identificación morfológica, se tomaron fotografías de los individuos a través de una lupa estereoscópica. Además, se fotografiaron los caracteres morfológicos para lograr la identificación de cada especie (Nieto Nafria y Mier Durante, 1998). Para este propósito, se desarrolló una matriz de caracteres morfológicos, en donde se observaron, compararon y analizaron: longitud de cuerpo (mm), forma de cuerpo (ovalado, alargado o huso alargado), color de cuerpo (verdoso, amarillento, entre otros), color de ojos (café oscuro, rojo o negro), longitud aproximada de antenas (mm), longitud aproximada de patas (mm), color de segmentos de patas (oscuro, claro, entre otros), longitud de sifones en relación al cuerpo, forma de sifones (cono, cilíndrico, subcilíndrico, entre otros), color de sifones (oscuro, claro o claro con ápice oscurecido) y forma de cauda (papila con placa anal redondeada, papila, triangular, digitiforme o lingliforme) (Simbaqueba *et al.*, 2014). Cabe destacar, que para la obtención de estos caracteres se utilizaron individuos adultos. Las mediciones de longitudes (cuerpo total, antenas, patas y sifones) se realizaron con muestras de individuos conservados anteriormente en alcohol al 70%. Estos se observaron en lupa estereoscópica con regla milimétrica añadida a ella, se eligieron 5 individuos por muestra, se tomaron las longitudes y se obtuvieron rangos aproximados para cuerpo, antenas, patas y sifones.

Se realizó la identificación morfológica en base a la información obtenida en la matriz de caracteres y a caracterizaciones morfológicas descritas por Prado (1990; 1991), Hermoso de Mendoza (1996), Nieto Nafria y Mier Durante (1998), Navarro y García-Marí (2014), Simbaqueba *et al.*, (2014) y Nieto Nafria *et al.* (2016). También se contó con el apoyo del Prof. Tomislav Curkovic para confirmar la identificación.

2. Análisis moleculares: Caracterización molecular

2.1 Extracción de Ácidos Nucleicos Totales (ANT)

a) Plantas

Se utilizaron aproximadamente 150 mg de tejido fresco por muestra, estos fueron macerados con un buffer de extracción (Tiocianato de guanidinio 4,0 M, acetato de sodio 0,2 M, EDTA (Ácido etilendiaminotetracético) 25 mM, acetato de potasio 1M, PVP 40 kdal 2,5% p/v y 3 mM β -mercaptoethanol) y se procesó de acuerdo al método de captura con sílica (MacKenzie *et al.*, 1997), donde 1 mL del macerado se mezcla con 300 μ L de lauril sarcosyl sulfato de sodio (NaLS) al 10% e incubado a 70°C durante 10 minutos. Posteriormente se centrifugó la solución a 14.000 rpm a 4°C y se mezcló 300 μ L del sobrenadante con 50 μ L de solución de sílica, 150 μ L de etanol absoluto frío y 300 μ L de Yoduro de sodio 6M. Se incubó por 10 minutos con agitación por inversión, a temperatura ambiente. Se centrifugó por 1 minuto a 8.000 rpm y se eliminó el sobrenadante. Se lavó el pellet remanente con solución de lavado (50% etanol, 10mM de Tris HCl pH 8,0 1mM de EDTA) y se secó a temperatura ambiente. Finalmente, se resuspendió el pellet en agua bi-destilada estéril, incubando a 70°C por 4

minutos y se centrifugó a 14.000 rpm por 3 minutos. Se rescató el sobrenadante y se almacenó a -20°C hasta que fue usado.

b) Áfidos

Para los insectos se utilizó el mismo protocolo de extracción, ajustando los volúmenes proporcionalmente al peso de los insectos. Los insectos de una misma colonia se analizaron como una sola muestra. Se colocaron 3 individuos de cada colonia por muestra en un tubo Eppendorf junto a 350 µL de buffer de extracción (Tiocianato de guanidinio 4,0 M, acetato de sodio 0,2 M, EDTA 25 mM, acetato de potasio 1M, PVP 40 kdal 2,5% p/v y 3 mM β-mercaptoethanol) y se procesó de acuerdo al método de captura con silica (MacKenzie *et al.*, 1997), donde 1 mL del macerado se mezcla con 120 µL de lauril sarcosyl sulfato de sodio (NaLS) al 10% e incubado a 70°C durante 10 minutos. Posteriormente se centrifugó la solución por 10 minutos a 13.500 rpm a 4°C y se mezcló 300 µL del sobrenadante con 50 µL de solución de sílica, 200 µL de etanol absoluto frío y 400 µL de yoduro de sodio 6M. Se incubó por 10 minutos con agitación por inversión, a temperatura ambiente. Se centrifugó por 1 minuto a 8.000 rpm a 4°C y se eliminó el sobrenadante. Se lavó el pellet remanente con solución de lavado (50% etanol, 10mM de Tris HCl pH 8,0 1mM de EDTA) y se secó a temperatura ambiente. Finalmente, se resuspendió el pellet en agua bi-distilada estéril, incubando a 70°C por 4 minutos y centrifugó a 14.000 rpm por 3 minutos. Se rescató el sobrenadante y se almacenó a -20°C hasta que fue usado.

2.2 Transcripción inversa (RT)

El genoma de los virus estudiados es de tipo RNA, por lo que, primero se sintetizó su ADN complementario (ADNc) por medio de una transcripción inversa (MacKenzie *et al.*, 1997). Los ANT fueron diluidos en 150 µL de agua libre de RNasa y 10 µL fueron denaturados a 95°C por 5 minutos y se usaron *primers* de DNA hexanucleotidos al azar (Roche, Basel, Switzerland). Luego fueron retrotranscrito con *Moloney murine leukaemia virus* retrotranscriptasa (M-MLV RT; Promega, Madison, Wisconsin, USA). El ADNc que se obtuvo fue almacenado a -20°C.

2.3 Detección de virus por PCR

Para la amplificación se utilizaron 30 µL de volumen, usando 2,5 µL de ADNc y 27,5 µL de mix de amplificación compuesto por 1 µL d-NTP, 1 µL de cada partidor, 1,5 µL MgCl₂, 0,2 µL Taq DNA polimerasa (Invitrogen, Sao Paulo, Brasil), 3 µL de buffer y 21 µL agua esterilizada. El programa PCR fue específico para cada virus a estudiar. Los *primers* utilizados para cada virus que se detectó, se muestran en Cuadro 1. Para optimizar la detección, en algunos casos, fue necesario diseñar parejas de primers en el laboratorio. Los productos de amplificación se separaron con electroforesis en gel de agarosa al 1.2%, la cámara de electroforesis funcionó con 500 amperes, 120 volts, durante 28 minutos. Los resultados obtenidos fueron observados con un transiluminador UV.

Cuadro 1. Primers utilizados para la detección de virus

Virus	Región genómica	Orientación secuencia: 5'-3'	Tamaño del producto de amplificación y cita bibliográfica (bp: pares de bases)
ArLV	PC4	GGCAAATCCTTCAACAGGGA ATCACATGAGCGGGCATT	660 bp Este trabajo
TuYV	RdRp	CGTAAAAGCAATCAAAGAGC TCATACAAACATTTCCGGTGTAGAC	633 bp Este Trabajo; Hauser <i>et al.</i> , 2000
BtMV	CP	AATGCGCAACAGAGAAAG TCTCTGTATCCTCCGATGT	226 bp Este trabajo
CeMV	Nib	GGTGGTTTTGGCAATGACGT GCTGGTTCACCTTGATCGATCC	317 bp Este trabajo
Nucleorh	CP	GTCGGACCCAAAAGCATTCA TGCTCTCCCTATGTCTCTTAC	427 bp Este trabajo
Cytorh	GP	TGGTTGTGATCAGTTTGATGAG AACATATGTCCGAACTCAATTTCA	290 bp Este trabajo
OPMV	RdRp	CGGTGTCCACAACAACCTC GGCATGGTTCGTGTACATC	645 bp Tang <i>et al.</i> , 2016
PLRV	CP	CCACTCCAACCTCCCGAGAAG TACATAGGGACGGCTTGCAT	208 bp Du <i>et al.</i> , 2006
AMV	CP	CCATCATGAGTTCTTCACAAAAG TCGTCACGTCATCAGTGAGAC	350 bp Xu y Nie, 2007

2.3 Purificación de los productos de amplificación

Posterior a la electroforesis se procedió a cortar las bandas de ADN de interés. Éstas se depositaron en tubos Eppendorf de 1,5 mL. Para obtener el ADN desde el gel, se utilizó el kit 'EZNA Gel Extraction' de Omega®.

2.4 Secuenciación

Los productos de PCR purificados, fueron secuenciados en ambas direcciones. Para esto se enviaron las muestras a la compañía Psomagen Inc (MD, EE.UU.).

2.5 Caracterización molecular de áfidos

La identificación morfológica descrita anteriormente se complementó mediante un análisis molecular, utilizando los individuos colectados que se habían rotulado y almacenado en tubos Eppendorf con Etanol al 70%. El análisis molecular se realizó a través de la amplificación del gen mitocondrial citocromo-C-oxidasa subunidad I (COI), conocido como "DNA

Barcode”, y se utilizó el mismo protocolo de extracción de ANT descrito previamente para insectos, con los volúmenes ajustados a su masa. Los amplicones fueron secuenciados directamente en Psomagen Inc, EE. UU, y las secuencias fueron contrastadas con las bases de datos públicas como GenBank y el banco de datos genéticos de “DNA Barcode” (<http://www.barcodinglife.com/>). Se realizó un alineamiento con las secuencias de referencia Bioedit v7.2, realizando una construcción filogenética mediante el método de Neighbor Joining y máxima verosimilitud, utilizando el programa MEGA v7.0.

RESULTADOS

1. Identificación morfológica

1.1 Plantas

Se obtuvo un total de 38 plantas con síntomas de virosis en tres periodos de muestreo (Cuadro 2), que se realizaron a mediados de septiembre (M1), inicio de noviembre (M2) y mediados de enero (M3).

En el primer muestreo se colectaron 10 plantas herbáceas (no cilantro), que colindaban un cuartel (C1) en donde previamente se había establecido cultivo de cilantro (*Coriandrum sativum* L.), pero en el momento del muestreo ya se había realizado la cosecha de este cultivo. Se identificó: Yuyo (*Brassica rapa* L.), *Chenopodium* sp., Ortiga (*Urtica urens* L.), Epilobio (*Epilobium* sp.), Penacho o bledo (*Amaranthus retroflexus* L.), Malva (*Malva nicaeensis* All.) y Ñilhue (*Sonchus olearaceus* L.).

En la segunda instancia de muestreo (M2), se colectaron 19 plantas herbáceas desde cuatro cuarteles diferentes aledaños y se volvió a tomar muestras en cuartel C1, donde se presentaba cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) establecido. Se tomaron muestras de dos plantas de este cultivo con síntomas de virosis, y de *S. olearaceus* y de alfalfa (*Medicago sativa* L.) en cuartel con este cultivo (C2).

En un tercer cuartel (C3) se muestrearon dos plantas de *S. olearaceus*, dos *Chenopodium* sp. y dos *B. rapa*, y en un cuarto cuartel se tomaron muestras de plantas de cilantro, cultivo que estaba establecido (C4), en donde la mayoría de las plantas presentaban sintomatología asociada a virosis.

En la tercera instancia (M3) se colectaron 9 muestras de cilantro y malva desde un quinto cuartel (C5), y una muestra de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) desde el cuartel colindante (C6). También se muestrearon cuarteles visitados anteriormente, colectando plantas de alfalfa (C3) y de penacho (C1).

Cuadro 2. Identificación morfológica de plantas colectadas en los tres periodos de muestreo.

Muestreo	Cuartel	Planta	Identificación Planta
M1	C1	P1	<i>Brassica rapa</i>
	C1	P2	<i>Chenopodium</i> sp.
	C1	P3	<i>Sonchus olearaceus</i>
	C1	P4	<i>Urtica urens</i>
	C1	P5	<i>Epilobium</i> sp.
	C1	P6	<i>Sonchus olearaceus</i>
	C1	P7	<i>Sonchus olearaceus</i>
	C1	P8	<i>Sonchus olearaceus</i>
	C1	P9	<i>Amaranthus retroflexus</i>
	C1	P10	<i>Malva nicaeensis</i>
M2	C1	P11	<i>Sonchus olearaceus</i>
	C2	P12	<i>Medicago sativa</i>
	C2	P13	<i>Medicago sativa</i>
	C1	P14	<i>Solanum tuberosum</i>

	C1	P15	<i>Solanum tuberosum</i>
	C3	P16	<i>Sonchus oleraceus</i>
	C3	P17	<i>Chenopodium</i> sp.
	C3	P18	<i>Brassica rapa</i>
	C3	P19	<i>Sonchus oleraceus</i>
	C3	P20	<i>Chenopodium</i> sp.
	C3	P21	<i>Brassica rapa</i>
	C4	P22	<i>Coriandrum sativum</i>
	C4	P23	<i>Coriandrum sativum</i>
	C4	P24	<i>Coriandrum sativum</i>
	C4	P25	<i>Coriandrum sativum</i>
	C4	P26	<i>Coriandrum sativum</i>
	C4	P27	<i>Coriandrum sativum</i>
	C4	P28	<i>Coriandrum sativum</i>
	C4	P29	<i>Coriandrum sativum</i>
M3	C5	P30	<i>Coriandrum sativum</i>
	C5	P31	<i>Malva nicaeensis</i>
	C5	P32	<i>Coriandrum sativum</i>
	C6	P33	<i>Ocimum basilicum</i>
	C3	P34	<i>Brassica rapa</i>
	C3	P35	<i>Medicago sativa</i>
	C3	P36	<i>Medicago sativa</i>
	C3	P37	<i>Medicago sativa</i>
	C1	P38	<i>Amaranthus retroflexus</i>

M1: septiembre, M2: noviembre, M3: enero.

De las 38 plantas colectadas, 20 son malezas: 7 *S. oleraceus*, 4 *B. rapa*, 3 *Chenopodium* sp., 2 *A. retroflexus* 1 *U. urens*, 1 *Epilobium* sp., y 2 *M. nicaeensis*. Las plantas de interés agronómico han sido: 10 de cilantro, 5 de alfalfa, 2 de papa y 1 de albahaca.

1.2. Áfidos

Se desarrolló una matriz de caracteres morfológicos de los áfidos asociados a las plantas para guiar su identificación. Se colectó un total de 29 muestras (cada muestra corresponde a una colonia de aprox. 5 a 15 individuos) de estos insectos durante los tres periodos de colecta. En el primer periodo, se colectaron 10 muestras (Cuadro 3), en el segundo 19 muestras (Cuadro 4), y durante el tercer periodo de muestreo no se encontró presencia de estos insectos en las plantas colectadas.

Los individuos muestreados presentaron longitud total aproximada de cuerpo entre 2 a 5 mm. Formas de cuerpo periforme ovalado, ovalado alargado y de huso alargado. En su mayoría la tonalidad de cuerpo es de color verde amarillento con algunas diferencias, como presencia de bandas longitudinales de posición dorsal y/o lateral más oscurecidas, y cubrimiento de cera blanco-grisácea pulverulenta como es el caso de las muestras A1, A16, A17, A18, A19, A20, A21 y A23. En el caso de A8 se presentaron individuos de color café oscuro brillante.

Cuadro 3. Matriz de caracteres morfológicos de áfidos colectados en primer muestreo.

Áfido	Carácter Morfológico											
	Longitud cuerpo (mm)	Forma Cuerpo	Color cuerpo	Color ojos	Longitud antenas (mm)	Color antenas	Longitud patas (mm)	Color segmentos de patas	Longitud sifones (mm)	Forma sifones	Color sifones	Forma cauda
A1	2,0	Ovalado	Verdoso cubierto de cera blanco-grisácea pulverulenta	Café oscuro	1,0 -1,5	Claro hasta 3er antenito, luego oscuro hasta ápice	1,5-2,0	Oscuro	0,11 - 0,15	Cono con borde marcado	Oscuro	Triangular
A2												
A3	2,5	Huso alargado	Verde amarillento con banda longitudinal dorsal oscura	Rojo	2,5-3,0	Claro con ápices de segmentos oscurecidos	2,0 -2,5	Claro con tarso oscurecido	0,25-0,33	Subcilindrico con reticulación poligonal en el ápice	Claro con ápice oscurecido	Liguliforme
A4	2,0 -3,0	Huso alargado	Verde amarillento con banda longitudinal dorsal oscura	Café oscuro	2,5-3,0	Claro con ápices de segmentos oscurecidos	2,0 -2,6	Claro con tarso oscurecido	0,25-0,33	Subcilindrico con reticulación poligonal en el ápice	Claro con ápice oscurecido	Liguliforme
A5	2,5-3,0	Periforme	Verde amarillento	Café	1,0 -2,5	Oscuro	2,0	Claro con tarso oscurecido	0,75	Recto	Claro con ápice y base oscurecido	Digitiforme
A6	2,5-3,0	Periforme	Verde amarillento	Café	2,0 -2,5	Oscuro	3,0	Claro con tarso oscurecido	0,75	Recto	Claro con ápice y base oscurecido	Digitiforme

A7	2,0 -3,0	Huso alargado	Verde amarillento opaco	Rojo	2,0 -2,5	Claro con ápices de segmentos oscurecidos	2,0-2,5	Claro con ápice de tibia y tarso oscurecido	0,4-0,5	Cilíndrico con ápice ensanchado	Claro con ápice oscurecido	Digitiforme
A8	2,5-3,0	Periforme	Café oscuro brillante	Oscuro	2,5-3,0	Oscuro	2,5-3,0	Claro con coxa, ápice de fémur y tibia oscurecido	0,75	Subcilindrico con reticulación poligonal en el ápice	Negro	Liguliforme
A9	2,0 -3,0	Huso alargado	Verde amarillento con banda longitudinal dorsal oscura	Rojo	2,5-3,0	Claro con puntos oscuros entre segmentos	2,0-2,5	Claro con tarso oscurecido	0,25-0,33	Subcilindrico con reticulación poligonal en el ápice	Claro con ápice oscurecido	Liguliforme
A10	2,0	Ovalado alargado	Verde amarillento con línea longitudinal central y lateral más oscurecida	Rojo	2,0 - 2,5	Claro con ápice oscurecido	1,5	Claro con ápice de tibia y tarso oscurecido	0,20-0,28	Cono con borde marcado	Claro con ápice oscurecido	Triangular

Otras muestras con colores distintivos en comparación a las demás fueron; A13 con color de cuerpo café-amarillento y con presencia notoria de manchas dorsales en hileras paralelas, de sentido vertical y horizontal de color café claro u oscuro, y A14 con un color amarillo oscuro fuerte.

Se observaron color de ojos café, café oscuro, rojos y rojos oscuro. Longitudes aproximadas de antenas entre 0,7 a 4,5 mm. en su mayoría de color claro con variaciones de zonas más oscurecidas, como ápice de segmentos oscurecidos, color claro hasta tercer antenito y luego oscurecido hasta ápice. A excepción de A13 y A14, donde se observó un color de antenas café con ápice oscurecido y color oscuro, respectivamente. La longitud total aproximada de patas fue entre 1,5 a 4,0 mm. presentando segmentos de color oscuro y claro con tarso oscurecido, y en algunos casos con ápice de tibia y tarso oscurecido.

Los sifones o cornículos, presentaron longitudes aproximadas entre 0,2 a 0,75 mm. Entre las formas que más se observaron de estas prolongaciones abdominales fueron; forma de cono con borde marcado, subcilíndrico con reticulación poligonal en el ápice y cilíndrico con ápice ensanchado. A5 y A6 presentaron forma recta y A13 de cono corto.

Los sifones observados se presentaron en su mayoría de color oscuro y claro con variaciones, en algunos casos con el ápice más oscurecido y en otros como A5 y A6, con base y ápice oscurecido. Dos muestras presentaron diferencias con las demás por el color de sifones; A8 con sifones negros y A13 café (mismo color de manchas que presenta el individuo en el abdomen). En cuanto a la cauda, se identificó en su mayoría la forma triangular, le sigue digitiforme y liguliforme. Hubo dos excepciones; una cauda con estrangulamiento, ápice abultado y plato anal bilabiado (A13), y otra que presentó forma digitiforme, pero con la porción terminal más ancha en comparación a las demás (A14).

En base a información obtenida de la matriz de caracteres morfológicos desarrollada, se identificaron 8 muestras (colonias) de pulgón de la col, las crucíferas o grasilla (*Brevicoryne brassicae* L.), 4 de pulgón verde del duraznero (*Myzus persicae* S.), 2 de pulgón verde de las solanáceas (*Macrosiphum euphorbiae* T.), 1 de pulgón de la papa (*Aulacorthum solani* Kalt.), 3 de pulgón de la lechuga (*Hyperomyzus lactucae* L.), 1 de pulgón de la zanahoria (*Cavariella aegopodii* Scop.), 1 de pulgón de la radicha (*Uroleucon sonchi* L.), 1 de pulgón de la ortiga común (*Microlophium carnosum* B.), 1 de pulgón del laurel de flor (*Aphis nerii* Boyer) y 1 de *Therioaphis* sp. Como se muestra en Cuadro 5. En los casos de A12 y A22 no se pudo determinar su identificación morfológica. En dos oportunidades (A2 y A20.1) se observó la presencia de individuos que no pertenecen a Homoptera, sino al suborden Heteroptera, por lo que no se les realizó análisis morfológico en base a la matriz de caracteres. En primera instancia, se encontró una colonia de estos insectos sobre *Chenopodium* sp. (P2) en estado juvenil (A2), y luego sobre otra planta del mismo género (P20) individuos de este suborden en estado adulto (A20.1), estos últimos se encontraban en la misma planta junto a una colonia de *B. brassicae*. En los casos de A26 y A27 se presentaron entre 2 a 3 individuos alados por planta muestreada, por lo que no se analizaron morfológicamente.

A las 29 muestras (colonias) se les realizaron análisis moleculares para complementar la identificación morfológica. Como se observa en el Cuadro 6, se presentaron resultados con coherencia en su identificación con un porcentaje de identidad $\geq 98\%$ en 21 muestras. Entre ellas, con un 100% de identidad: *B. brassicae* (A1, A16, A17, A18, A19 y A21), *M. euphorbiae* (A3 y A9), *H. lactucae* (A6, A7 y A11), *U. sonchi* (A8), *M. persicae* (A10 y A24) y *C. aegopodii* (A25).

Cuadro 4. Matriz de caracteres morfológicos de áfidos colectados durante el segundo muestreo.

Áfido	Carácter Morfológico											
	Longitud cuerpo (mm)	Forma Cuerpo	Color cuerpo	Color ojos	Longitud antenas (mm)	Color antenas	Longitud patas (mm)	Color segmentos patas	Longitud sifones (mm)	Forma sifones	Color sifones	Forma cauda
A11	2,0 -3,0	Huso alargado	Verde amarillento opaco	Rojo	2,0 - 2,5	Claro con ápices de segmentos oscurecidos	2,0-2,5	Claro con ápice de tibia y tarso oscurecido	0,4-0,5	Cilíndrico con ápice ensanchado	Claro con ápice oscurecido	Digitiforme
A12	3,0 -5,0	Huso alargado	Verde amarillento	Rojo oscuro	4,0 - 4,5	Claro con zona oscura entre el tercer y cuarto segmento	3,5-4,0	Claro con tarso oscurecido	1,2	Subcilindrico con reticulación poligonal en el ápice	Claro con ápice oscurecido	Liguliforme
A13	2,5	Ovalado	Café amarillento, manchas dorsales en hileras paralelas vertical y horizontal de color café claro u oscuro	Rojo	2,0	Café con ápice oscurecido	2,0	Claro con tarso oscurecido	0,2	Cono corto	Claro con ápice oscurecido	Con estrangulamiento, ápice abultado y plato anal bilabiado
A14	1,75 - 2,5	Ovalado	Amarillo	Oscuro	2,0	Oscuro	1,5-2,0	Oscuro	0,5	Cono con borde marcado	Claro con ápice oscurecido	Digitiforme con porción terminal muy ancha
A15	2,0	Ovalado alargado	Verde amarillento con línea longitudinal central y lateral más oscurecida	Rojo	2,0 -2,5	Claro con ápice oscurecido	1,5	Claro con ápice de tibia y tarso oscurecido	0,20-0,28	Cono con borde marcado	Claro con ápice oscurecido	Triangular

A16	2,0-2,5	Ovalado	Verdoso cubierto de cera blanco-grisácea pulverulenta	Café oscuro	1,0 -1,5	Claro hasta 3er antenito, luego oscuro hasta ápice	1,5-2,0	Oscuro	0,11 - 0,15	Cono con borde marcado	Claro con ápice oscurecido	Triangular
A17	2,0 -2,5	Ovalado	Verdoso cubierto de cera blanco-grisácea pulverulenta	Café oscuro	1,0 -1,5	Claro hasta 3er antenito, luego oscuro hasta ápice	1,5-2,0	Oscuro	0,11 - 0,15	Cono con borde marcado	Claro con ápice oscurecido	Triangular
A18	2,0-2,5	Ovalado	Verdoso cubierto de cera blanco-grisácea pulverulenta	Café oscuro	1,0 -1,5	Claro hasta 3er antenito, luego oscuro hasta ápice	1,5-2,0	Oscuro	0,11 - 0,15	Cono con borde marcado	Claro con ápice oscurecido	Triangular
A19	2,0-2,5	Ovalado	Verdoso cubierto de cera blanco-grisácea pulverulenta	Café oscuro	1,0 -1,5	Claro hasta 3er antenito, luego oscuro hasta ápice	1,5-2,0	Oscuro	0,11 - 0,15	Cono con borde marcado	Claro con ápice oscurecido	Triangular
A20	2,0-2,5	Ovalado	Verdoso cubierto de cera blanco-grisácea pulverulenta	Café oscuro	1,0 -1,5	Claro hasta 3er antenito, luego oscuro hasta ápice	1,5-2,0	Oscuro	0,11 - 0,15	Cono con borde marcado	Claro con ápice oscurecido	Triangular
A20.1												
A21	2,0 -2,5	Ovalado	Verdoso cubierto de cera blanco-grisácea pulverulenta	Café oscuro	1,0 -1,5	Claro hasta 3er antenito, luego oscuro hasta ápice	1,5-2,0	Oscuro	0,11 - 0,15	Cono con borde marcado	Oscuro	Triangular

A22	1,5-2,8	Ovalado alargado	Verde amarillento	Café oscuro	0,7	Claro con ápice oscurecido	1,5-2,0	Claro con tarso oscurecido	0,4	Cilíndrico con ápice ensanchado	Claro	Digitiforme
A23	2,0 -2,5	Ovalado	Verdoso cubierto de cera blanco- grisácea pulverulenta	Café oscuro	1,0 -1,5	Claro hasta 3er antenito, luego oscuro hasta ápice	1,5-2,0	Oscuro	0,11 - 0,15	Cono con borde marcado	Oscuro	Triangular
A24	2,0	Ovalado alargado	Verde amarillento con una línea longitudinal central y lateral de color verde más oscuro	Rojo	2,0 2,5	Claro con ápice oscurecido	1,5	Claro con ápice de tibia y tarso oscurecido	0,20-0,28	Cono con borde marcado	Claro con ápice oscurecido	Triangular
A25	1,5-2,8	Ovalado alargado	Verde amarillento	Café oscuro	0,7	Claro con ápice oscurecido	1,5-2,0	Claro con tarso oscurecido	0,4	Cilíndrico con ápice ensanchado	Claro	Digitiforme
A26												
A27												
A28	2,0	Ovalado alargado	Verde amarillento con una línea longitudinal central y lateral de color verde más oscuro	Rojo	2,0 -2,5	Claro con ápice oscurecido	1,5	Claro con ápice de tibia y tarso oscurecido	0,20-0,28	Cono con borde marcado	Claro con ápice oscurecido	Triangular

Con el 99- 99,80% de identidad con la especie tipo: *M. carnosum* (A4), *A. solani* (A5), *M. persicae* (A15 y A28), *B. brassicae* (A20 y A23) y *Therioaphis* sp. (A13). Solo una muestra, a parte de las detectadas como pertenecientes a *Heteroptera* (A2 y A20.1), dio un % de identidad < 98 %: *Cavariella aegopodii* (A22) con el 97,10%.

Cuadro 5. Identificación morfológica de plantas y áfidos asociados.

Muestreo	Cuartel	Planta	Identificación	Áfido	Identificación
M1	C1	P1	<i>Brassica rapa</i>	A1	<i>Brevicoryne brassicae</i>
	C1	P2	<i>Chenopodium</i> sp.	A2	*
	C1	P3	<i>Sonchus olearaceus</i>	A3	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>
	C1	P4	<i>Urtica urens</i>	A4	<i>Microlophium carnosum</i>
	C1	P5	<i>Epilobium</i> sp.	A5	<i>Aulacorthum solani</i>
	C1	P6	<i>Sonchus oleraceus</i>	A6	<i>Hyperomyzus lactucae</i>
	C1	P7	<i>Sonchus oleraceus</i>	A7	<i>Hyperomyzus lactucae</i>
	C1	P8	<i>Sonchus oleraceus</i>	A8	<i>Uroleucon sonchi</i>
	C1	P9	<i>Amaranthus</i> sp.	A9	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>
	C1	P10	<i>Malva nicaeensis</i>	A10	<i>Myzus persicae</i>
M2	C1	P11	<i>Sonchus oleraceus</i>	A11	<i>Hyperomyzus lactucae</i>
	C2	P12	<i>Medicago sativa</i>	A12	**
	C2	P13	<i>Medicago sativa</i>	A13	<i>Therioapihs</i> sp.
	C1	P14	<i>Solanum tuberosum</i>	A14	<i>Aphis nerii</i>
	C1	P15	<i>Solanum tuberosum</i>	A15	<i>Myzus persicae</i>
	C3	P16	<i>Sonchus oleraceus</i>	A16	<i>Brevicoryne brassicae</i>
	C3	P17	<i>Chenopodium</i> sp.	A17	<i>Brevicoryne brassicae</i>
	C3	P18	<i>Brassica rapa</i>	A18	<i>Brevicoryne brassicae</i>
	C3	P19	<i>Sonchus oleraceus</i>	A19	<i>Brevicoryne brassicae</i>
	C3	P20	<i>Chenopodium</i> sp.	A20	<i>Brevicoryne brassicae</i>
			<i>Chenopodium</i> sp.	A20.1	*
	C3	P21	<i>Brassica rapa</i>	A21	<i>Brevicoryne brassicae</i>
	C4	P22	<i>Coriandrum sativum</i>	A22	**
	C4	P23	<i>Coriandrum sativum</i>	A23	<i>Brevicoryne brassicae</i>
	C4	P24	<i>Coriandrum sativum</i>	A24	<i>Myzus persicae</i>
	C4	P25	<i>Coriandrum sativum</i>	A25	<i>Cavariella aegopodii</i>
	C4	P26	<i>Coriandrum sativum</i>	A26	-
	C4	P27	<i>Coriandrum sativum</i>	A27	-
C4	P28	<i>Coriandrum sativum</i>	A28	<i>Myzus persicae</i>	
C4	P29	<i>Coriandrum sativum</i>		-	
M3	C5	P30	<i>Coriandrum sativum</i>		-
	C5	P31	<i>Malva nicaeensis</i>		-
	C5	P32	<i>Coriandrum sativum</i>		-
	C6	P33	<i>Ocimum basilicum</i>		-
	C3	P34	<i>Brassica rapa</i>		-
	C3	P35	<i>Medicago sativa</i>		-
	C3	P36	<i>Medicago sativa</i>		-
	C3	P37	<i>Medicago sativa</i>		-
	C1	P38	<i>Amaranthus retroflexus</i>		-

M1: septiembre, M2: noviembre, M3: enero. *: no corresponde a áfido. **: por determinar.

Las muestras A2 y A20.1 que se identificaron previamente como pertenecientes al suborden *Heteroptera*, tuvieron el 86,80% de identidad con *Corythucha padi* en el análisis molecular (* en Cuadro 6). A26 y A27 no presentaron resultados en el análisis molecular, por poseer secuencia de muy baja calidad para la lectura.

Cuadro 6. Resultados de análisis moleculares para identificación de áfidos asociados a plantas colectadas.

Áfido	ID morfológica	ID molecular	Nº genbank de la especie de referencia	% identidad nucleotídica con la especie tipo
A1	<i>Brevicoryne brassicae</i>	<i>Brevicoryne brassicae</i>	MH407715.1	100
A2	*	<i>Corythucha padi</i> ^a	M63980941.1	86,8 ^b
A3	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	EU701726.1	100
A4	<i>Microlophium carnosum</i>	<i>Microlophium carnosum</i>	JX507422.1	99,8
A5	<i>Aulacorthum solani</i>	<i>Aulacorthum solani</i>	KF639123.1	99,8
A6	<i>Hyperomyzus lactucae</i>	<i>Hyperomyzus lactucae</i>	MW596769.1	100
A7	<i>Hyperomyzus lactucae</i>	<i>Hyperomyzus lactucae</i>	MW596769.1	100
A8	<i>Uroleucon sonchi</i>	<i>Uroleucon sonchi</i>	MW596771.1	100
A9	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	EU701726.1	100
A10	<i>Myzus persicae</i>	<i>Myzus persicae</i>	KR889094.1	100
A11	<i>Hyperomyzus lactucae</i>	<i>Hyperomyzus lactucae</i>	MW596769.1	100
A12	¿?	<i>Chaitophorus leucomelas</i>	KF639289.1	99,84
A13	<i>Therioaphis</i> sp.	<i>Therioaphis trifolii</i>	MK766411.1	99,2
A14	<i>Aphis nerii</i>	<i>Aphis nerii</i>	JF969254.1	99,84
A15	<i>Myzus persicae</i>	<i>Myzus persicae</i>	MT198936.1	99
A16	<i>Brevicoryne brassicae</i>	<i>Brevicoryne brassicae</i>	MH407715.1	100
A17	<i>Brevicoryne brassicae</i>	<i>Brevicoryne brassicae</i>	MH407715.1	100
A18	<i>Brevicoryne brassicae</i>	<i>Brevicoryne brassicae</i>	MH407715.1	100
A19	<i>Brevicoryne brassicae</i>	<i>Brevicoryne brassicae</i>	MH407715.1	100
A20	<i>Brevicoryne brassicae</i>	<i>Brevicoryne brassicae</i>	MH407715.1	99
A20.1	*	<i>Corythucha padi</i> ^a	M63980941.1	86,8 ^b
A21	<i>Brevicoryne brassicae</i>	<i>Brevicoryne brassicae</i>	KT877996.1	100
A22	¿?	<i>Cavariella aegopodii</i> ^a	MG168203.1	97,1 ^b
A23	<i>Brevicoryne brassicae</i>	<i>Brevicoryne brassicae</i>	KT877996.1	99,52
A24	<i>Myzus persicae</i>	<i>Myzus persicae</i>	MT198936.1	100
A25	<i>Cavariella aegopodii</i>	<i>Cavariella aegopodii</i>	GU667509.1	100
A26	-	-	-	-
A27	-	-	-	-
A28	<i>Myzus persicae</i>	<i>Myzus persicae</i>	MT198936.1	99

¿?: por determinar; *no corresponde a áfido; ^aEspecie más cercana a la muestreada en este trabajo.

^bIdentificación incompleta.

2. Caracterización Molecular de virus

De las 38 plantas analizadas para BtMV, TuYV, *Cytohabdovirus*, *Nucleohabdovirus*, OPMV, ArLV (RaLV), PLRV, CeMV, y AMV, 33 muestras resultaron positivas para algunos virus. Como se muestra en Cuadro 7, se detectaron: 12 plantas con TuYV (3 *B. rapa*, 1 *Epilobium* sp., 1 *Amaranthus* sp., 1 *M. nicaeensis*, 1 *U. urens*, 2 *S. oleraceus* y 3 *C. sativum*), 25 plantas con AMV (5 *M. sativa*, 2 *S. tuberosum*, 2 *Chenopodium* sp., 10 *C. sativum*, 2 *S. oleraceus*, 1 *B. rapa*, 1 *O. Basilicum*, 1 *M. nicaeensis* y 1 *Amaranthus retroflexus*), 2 plantas con *Nucleohabdovirus* (*Chenopodium* sp. y 1 *S. oleraceus*), 1 planta con OPMV y TuYV (*U. urens*) 1 planta con AMV y OPMV (*S. oleraceus*), 2 plantas con AMV y TuYV (1 *S. oleraceus* y 1 *B. rapa*), 4 plantas con AMV y BtMV (*C. sativum*), 2 plantas con AMV y CeMV (1 *C. sativum* y 1 *M. sativa*), 2 plantas con AMV, TuYV y OPMV (*C. sativum*), 1 planta con AMV, TuYV, OPMV y CeMV (*C. sativum*) y 1 planta con *Cytohabdovirus*, *Nucleohabdovirus* y TuYV (*S. oleraceus*).

De los 29 insectos analizados para estos 9 virus, 17 resultaron positivos: 10 áfidos con TuYV (1 *M. carnosum*, 2 *M. persicae*, 6 *B. brassicae* y 1 *Cavariella* sp., 3 áfidos con PLRV (1 *A. solani*, 1 *H. lactucae* y 1 *Aphis nerii*), 1 áfido con AMV (*H. lactucae*), 1 con ArLV (chinche con 86,80% de identidad con *Corytucha padi* (A20.1)), 1 áfido con AMV y TuYV (*M. carosum*), 1 áfido con OPMV, AMV y ArLV (*M. euphorbiae*), y 1 áfido con OPMV, PLRV y *Nucleohabdovirus* (*H. lactucae*).

Cuadro 7. Resultados de análisis RT-PCR realizados a plantas y áfidos y Tingidae asociados para 9 virus: BtMV, TuYV, *Cytohabdovirus*, *Nucleohabdovirus*, OPMV, ArLV (RaLV), PLRV, CeMV, y AMV.

Planta	RT- PCR	Áfido o Tingidae	RT-PCR
P1 <i>Brassica rapa</i>	TuYV	A1 <i>Brevicoryne brassicae</i>	TuYV
P2 <i>Chenopodium</i> sp.	Nucl	A2 <i>Corytucha</i> sp.	-
P3 <i>Sonchus olearaceus</i>	-	A3 <i>Macrosiphum euphorbiae</i>	AMV, OPMV, ArLV
P4 <i>Urtica urens</i>	OPMV, TuYV	A4 <i>Microlophium carnosum</i>	AMV, TuYV
P5 <i>Epilobium</i> sp.	TuYV	A5 <i>Aulacorthum solani</i>	PLRV
P6 <i>Sonchus oleraceus</i>	-	A6 <i>Hyperomyzus lactucae</i>	PLRV
P7 <i>Sonchus oleraceus</i>	-	A7 <i>Hyperomyzus lactucae</i>	AMV
P8 <i>Sonchus oleraceus</i>	-	A8 <i>Uroleucon sonchi</i>	-
P9 <i>Amaranthus</i> sp.	TuYV	A9 <i>Macrosiphum euphorbiae</i>	-
P10 <i>Malva nicaeensis</i>	TuYV	A10 <i>Myzus persicae</i>	-
P11 <i>Sonchus oleraceus</i>	AMV, OPMV	A11 <i>Hyperomyzus lactucae</i>	OPMV, PLRV, Nucl
P12 <i>Medicago sativa</i>	AMV	A12 <i>Chaitophorus leucomelas</i>	-
P13 <i>Medicago sativa</i>	AMV	A13 <i>Therioaphis trifolii</i>	-
P14 <i>Solanum tuberosum</i>	AMV	A14 <i>Aphis nerii</i>	PLRV
P15 <i>Solanum tuberosum</i>	AMV	A15 <i>Myzus persicae</i>	TuYV
P16 <i>Sonchus oleraceus</i>	AMV, TuYV	A16 <i>Brevicoryne brassicae</i>	TuYV
P17 <i>Chenopodium</i> sp.	AMV	A17 <i>Brevicoryne brassicae</i>	TuYV
P18 <i>Brassica rapa</i>	TuYV	A18 <i>Brevicoryne brassicae</i>	TuYV
P19 <i>Sonchus oleraceus</i>	Cyto, Nucl, TuYV	A19 <i>Brevicoryne brassicae</i>	TuYV
P20 <i>Chenopodium</i> sp.	AMV	A20 <i>Brevicoryne brassicae</i>	TuYV
	-	A20.1 <i>Corythucha</i> sp.	ArLV
P21 <i>Brassica rapa</i>	AMV, TuYV	A21 <i>Brevicoryne brassicae</i>	-

P22	<i>Coriandrum sativum</i>	AMV, TuYV, OPMV	A22	<i>Cavariella</i> sp.	TuYV
P23	<i>Coriandrum sativum</i>	AMV, BtMV	A23	<i>Brevicoryne brassicae</i>	-
P24	<i>Coriandrum sativum</i>	AMV, BtMV	A24	<i>Myzus persicae</i>	TuYV
P25	<i>Coriandrum sativum</i>	AMV, BtMV	A25	<i>Cavariella</i> sp.	-
P26	<i>Coriandrum sativum</i>	AMV, TuYV, OPMV	A26	-	-
P27	<i>Coriandrum sativum</i>	AMV, BtMV	A27	-	-
P28	<i>Coriandrum sativum</i>	AMV, CeMV, TuYV, OPMV	A28	<i>Myzus persicae</i>	-
P29	<i>Coriandrum sativum</i>	AMV, CeMV	-	-	-
P30	<i>Coriandrum sativum</i>	AMV	-	-	-
P31	<i>Malva nicaeensis</i>	AMV	-	-	-
P32	<i>Coriandrum sativum</i>	AMV	-	-	-
P33	<i>Ocimum basilicum</i>	AMV	-	-	-
P34	<i>Brassica rapa</i>	-	-	-	-
P35	<i>Medicago sativa</i>	AMV	-	-	-
P36	<i>Medicago sativa</i>	AMV	-	-	-
P37	<i>Medicago sativa</i>	AMV, CeMV	-	-	-
P38	<i>Amaranthus retroflexus</i>	AMV	-	-	-

DISCUSION

La identificación de pulgones se considera una tarea no sencilla, debido a la plasticidad morfológica y, a veces, a la falta de caracteres morfológicos notoriamente diferenciados, ya que poseen una gran cantidad de variación intraespecífica y similitud fenotípica entre diferentes especies que podrían impedir una identificación adecuada. Sin embargo, la mayoría de las muestras analizadas morfológicamente se correspondieron con la identificación molecular. Durante los últimos años la utilidad del método DNA barcoding (código de barras de ADN) ha demostrado su valor para complementar y apoyar la identificación de estas especies. Esta herramienta se desarrolla en base a un fragmento del gen mitocondrial citocromo C oxidasa subunidad I (COI), que es una región de código de barras de DNA estándar para la identificación de especies y animales. En los áfidos, se ha descubierto que un valor umbral del 2% de distancia genética es adecuado para distinguir a la mayoría de las especies (Li *et al.*, 2020), por lo que, obteniendo un porcentaje de identidad $\geq 98\%$ de similitud se puede afirmar que se trata de una misma especie. De las 29 muestras de áfidos analizadas, 21 coincidieron con un porcentaje de identidad $\geq 98\%$ con la identificación previa en base a la matriz morfológica, lo que respalda lo expresado por Li *et al.* (2020): que el método DNA barcoding es un método sólido para identificar especies de forma rápida y precisa, siendo una buena herramienta complementaria a la identificación morfológica, sobre todo para especies crípticas como son los áfidos.

Las muestras A2 y A20.1 identificadas previamente como pertenecientes al suborden Heteroptera presentaron el 86,8% de identidad con *Corythucha padi*. En Chile hay 5 especies descritas presentes (Drake, 1939; Drake y Ruhoff, 1965) de este grupo de insectos llamados comúnmente “Chinches de encaje” o “Lace bug” (Hemiptera, Tingidae). De ellas, solo una corresponde a este género, la especie *Corythucha ciliata*. Como indica Prado (1990), esta especie en particular es conocida por ser plaga del plátano oriental (*Platanus* spp.), las ninfas y adultos se alimentan de los fluidos vegetales provocando graves daños y pueden ser vectores de hongos (*Gnomonia platani* y *Ceratocysti fimbriata*). En comparación a las características morfológicas de los individuos adultos presentes en la muestra A20.1 con la especie *Corythucha padi*, hay diferencias significativas a simple vista (color y forma general cuerpo, antenas, forma del pronoto, entre otras), lo que explicaría el bajo porcentaje de identidad obtenido para la especie *Coythucha padi*. Se sugiere un estudio más especializado para su identificación, no descartándose la presencia de una nueva especie descrita en el país para este género. Por esta razón, la identificación se mantiene hasta el nivel de género para A2 y A20.1 (Cuadro 7). Algunas especies pertenecientes al suborden Heteroptera son vectores de fitovirus, como *Piesma quadratum* (Hemiptera, Heteroptera, Piesmatidae) que es vector del virus *Beet leaf curl virus* (BLCV), integrante de la familia *Rhabdoviridae* (EFSA PLH Panel, 2014). Si bien, en esta oportunidad no se detectaron rhabdovirus en los insectos A2 y A20.1, no se descarta la posible potencialidad de *Corythucha* sp. como vector, lo que también sugiere un estudio posterior.

A22 presentó un porcentaje de similitud del 97,1% con la especie tipo *Cavariella aegopodii*, al ser $< 98\%$ la identificación se mantiene hasta el nivel de género, sugiriendo un estudio posterior para especificar la especie analizada.

A26 y A27 mostraron secuencias de muy baja calidad, en consecuencia, no se pudo completar el análisis molecular. Esto pudo haber sucedido por la presencia de parasitoides en los individuos analizados, los cuales alterarían los resultados de las secuencias.

Aphis nerii es una de las plagas más comunes de plantas ornamentales en las familias de *Apocynaceae* y *Sclepiadaceae* (Rouhani *et al.*, 2012), no así en cultivos tradicionales. Sin embargo, se encontraron individuos en una planta de papa (*S. tuberosum*). La muestra de estos áfidos resultó positiva para *Potato leafroll virus* (PLRV - *Polerovirus, Luteoviridae*), este es uno de los virus que generan mayores pérdidas en los cultivos de papas a nivel mundial y es transmitido por diferentes especies de áfidos, siendo más eficientes *Myzus persicae* y *Macrosiphum euphorbiae* (Mesa *et al.*, 2016).

No se registra que *Aphis nerii* se alimente de plantas de papa, por este motivo se volvieron a revisar fotografías previas tomadas en detalle, y se observaron 2 individuos adultos alados con caracteres morfológicos diferentes a los descritos por Holman *et al.*, (1991) para *Aphis nerii*, sobre todo en forma y color de sifones. En este caso, pudo haber habido un cruzamiento de otra especie que se encontraba en la muestra y que esta haya estado con PLRV, lo que explicaría la detección. Estas fotografías no permiten obtener una identificación morfológica más detallada de estos individuos alados en particular, por lo que, no se pudo obtener mayor información de este caso.

Dentro de los criterios de identificación de un virus, el medio y modalidad de transmisión, son unos de los más relevantes, porque determinan su capacidad de diseminación y además los posibles medios de control que se puedan aplicar sobre él (Garrido, 2018). En este estudio se detectaron 4 plantas con BtMV y 3 con CeMV. Estos virus se transmiten de forma no-persistente, es decir, que el virus se mantiene en el estilete del insecto, teniendo periodos muy cortos para la adquisición y retención del virus. Como lo indica Garrido (2018), hasta el momento todos los virus conocidos con este mecanismo de transmisión tienen como vector exclusivamente a áfidos. La adquisición y la inoculación se producen durante las breves inserciones de prueba que realiza el áfido (segundos a minutos), lo que hace mucho más rápida su diseminación en un área determinada, y por ende dificulta su control. Esta característica explica que no se hayan detectado, a través de los análisis moleculares, estos virus en los áfidos analizados y sí en las plantas que los alojaban. Cabe destacar que la eficiencia de este mecanismo de transmisión disminuye cuando el tiempo de adquisición aumenta y además tienen poca especificidad virus-vector, lo que genera que muchas especies sean capaces de transmitirlos (Garrido, 2018).

En una planta de alfalfa y en dos de cilantro se detectó el virus CeMV, conocido por infectar a este último cultivo. Estas plantas estaban ubicadas en un sector de cilantro, en el cual se observó una gran cantidad de plantas con síntomas causados por virus, COMO amarillez, mosaico y marchitez en las hojas. Los huéspedes de este virus son comúnmente apio, cilantro y perejil. Puede ser transmitido de forma no-persistente por más de veintiséis especies de áfidos como *Aphis middletonii*, *A. ferruginea-striata*, *A. apigraveolens*, *A. apii*, *A. gossypii* y *Cavalliera aegopodii* (Traicevski, 2000).

Dos plantas de malezas presentaron virus pertenecientes a la familia *Rhabdoviridae*. Una *S. oleraceus* con *Nucleorhabdovirus* y *Cytohabdovirus*, y una planta de *Chenopodium* sp. con un *Nucleorhabdovirus*. Estos virus habían sido detectados anteriormente en plantas de cilantro que se encontraban en huertos del mismo sitio y

poseen una modalidad de transmisión del tipo persistente circulativa. Como lo señala Garrido (2018), en este tipo de transmisión el virus es absorbido y retenido por los tejidos del insecto y se caracteriza por la invasión de las glándulas salivales. Los virus, deben ser capaces de atravesar el intestino del insecto y diseminarse a los órganos vecinos para llegar a las glándulas salivales para su transmisión. Esta acción requiere de un periodo de latencia dentro del vector, atravesando la barrera hematoencefálica del insecto. Los virus alcanzan las glándulas salivales por la vía de la hemolinfa o por otras rutas tales como el tejido nervioso (ruta neurotrópica) o mediante tejidos conectivos. Esta actividad involucra interacciones complejas entre los virus transmitidos y sus insectos vectores, y la especificidad de las interacciones virus-vector está determinada principalmente por la cápside viral (proteínas y glicoproteínas), así como por algunas proteínas no estructurales. Además, algunos virus poseen otra característica de importancia; que son propagativos, es decir, que son capaces de multiplicarse en las células del insecto durante su circulación, comportándose como un organismo parásito tanto en la planta huésped como en el insecto vector. Pudiendo de vez en cuando, llegar a infectar a la progenie del insecto transovariamente y algunos de ellos pudiendo ocasionar la muerte del vector.

Como ocurre con otros virus que se replican en sus vectores, los rhabdovirus pasan por un período de latencia de 3 a más de 60 días (Hogenhout *et al.*, 2008), lo que significa que su propagación se pueda extender y mantener en el tiempo. Suelen ser transmitidos por áfidos y cicadélidos (Homoptera: Cicadellidae), entre otros artrópodos (Walker *et al.*, 2018). En este estudio fue detectado un *Nucleorhabdovirus* en un áfido de la especie *Hyperomyzus lactucae*. Este áfido es conocido generalmente por transmitir dos rhabdovirus, *Lettuce necrotic yellows cytorhabdovirus* (LNYV) (Francki *et al.*, 1989) y *Sowthistle yellow vein virus* (SYVV). Según Hogenhout *et al.*, (2008) el período de latencia de SYVV en *H. lactucae* es largo y depende en gran medida de la temperatura ambiental. Las razones de este período de latencia mucho más largo en comparación con los virus que son simplemente circulativos (no propagativos) probablemente se relacionan con el requisito de que el virus se replique antes de que se vuelva transmisible, confiriéndole una importancia fitopatológica relevante en comparación a otros mecanismos de transmisión.

Se detectaron 10 áfidos y 12 plantas con TuYV, las cuales resultaron ser 3 cilantros y las demás todas malezas. Este virus causa enfermedad principalmente en especies del género *Brassica* (Jay *et al.*, 1999; Sharma *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2015; Farzadfar *et al.*, 2007) y es amplio el número de especies cultivadas y de malezas susceptibles. Esto indica que hay numerosas especies de plantas que se comportan como reservorio del virus (Latham *et al.*, 2003). TuYV pertenece al género *Polerovirus* (Familia *Luteoviridae*) caracterizándose por poseer una modalidad de transmisión persistente circulativa, al igual que los rhabdovirus mencionados anteriormente (Stevens *et al.*, 2008; Garrido, 2018).

Colonias de *B. brassicae*, *M. carnosum*, *C. aegopodii* y *M. persicae* resultaron positivas a TuYV en este estudio. Se ha demostrado que este virus es transmitido por algunas especies de pulgones como *B. brassicae*, *A. solani*, y *M. euphorbiae*, pero su principal vector es el pulgón verde del duraznero (*M. persicae*) (Milosevic *et al.*, 2019). De *M. carnosum* y *C. aegopodii* no se tienen registros anteriores de ser vectores de este virus. Los resultados de este estudio lo indican como potenciales vectores. Es necesario proceder con las pruebas de transmisión para poder definir si efectivamente son o no vectores de TuYV.

Una colonia de áfido de la especie *H. lactucae* encontradas sobre *S. oleraceus* y otra de *A. solani* sobre *Epilobium* sp. resultaron positivas a PLRV. Como se mencionó anteriormente, *H. lactucae* es generalmente conocido por transmitir LNYV

(*Rhabdoviridae*, *Cytorhabdovirus*) de manera persistente propagativa (Francki *et al.*, 1989) y se ha observado que presenta un alto grado de asociación entre *H. lactucae* como vector principal y *S. oleraceus* como huésped primario, entre otros, como la lechuga (*Lactuca sativa*) (Moreno y Fereres, 2012). Aunque este pulgón no se desarrolla en la lechuga, los individuos adultos alados se alimentan de estos huéspedes y transmiten virus, lo que hace a esta plaga económicamente significativa para este cultivo. Este áfido es vector de aproximadamente 12 virus no persistentes, como el *Lettuce mosaic virus* (LMV) y varios virus persistentes, entre ellos LNYV y *Papaya ringspot virus* (PRSV). No se encuentran registros de *H. lactucae* como vector de PLRV, sin embargo, varias especies de áfidos son capaces de transmitirlo, entre ellos *Myzus persicae*, que según Hidayet *et al.* (2006) es uno de sus vectores más eficientes. Por el contrario, el pulgón de las solanáceas (*A. solani*) como lo indica Naga *et al.* 2019, sí es capaz de transmitir PLRV, pero con baja eficiencia (7,1%) en comparación a *M. persicae* (66,6%), lo que respalda el hecho que esta especie sigue siendo una de las más eficientes para la transmisión de este virus. En este estudio no se detectaron individuos *M. persicae* positivo para PLRV.

Se detectó OPMV junto a TuYV (familia *Luteoviridae*), en una planta de ortiga (*U. urens*) y en 3 cilantros. *Opium poppy mosaic virus* es un virus del género *Umbravirus* (familia *Tombusviridae*) recientemente descrito para este género. Los *Umbravirus* se diferencian de otros fitovirus en que no codifican proteína de la cubierta (CP) y no forman partículas virales en las plantas infectadas. Para compensar la falta de partículas, estos virus dependen para sobrevivir de un virus asistente o auxiliar (*virus helper*) que siempre es un miembro de la familia *Luteoviridae* (Taliensky y Ryabov, 2008), como se presentó en la planta de ortiga y en los 3 cilantros. También se detectó OPMV en una *S. oleraceus*, pero sin la presencia de un virus auxiliar *Luteoviridae*. Es importante destacar, que los tombusvirus pueden también adquirirse a través de aguas superficiales y suelos, sin la ayuda de vectores, es decir, que la mayoría de los virus pertenecientes a esta familia, pueden transmitirse desde el suelo de forma dependiente o independiente de un vector biológico (King *et al.*, 2012), pero cuando son transmitidos por áfidos solo es posible con la presencia de un virus auxiliar *Luteoviridae* (Tang *et al.*, 2016) como se observó en estos cuatro casos.

En diez plantas de cilantro se detectó AMV, virus conocido previamente por infectar a este cultivo y pertenece al género *Alfamovirus*, uno de los cinco géneros de la familia *Bromoviridae*. Se presenta principalmente en climas templados, causando enfermedades importantes en alfalfa y trébol dulce (*Melilotus officinalis*), así como también ocasionalmente en cultivos vecinos como la soja, tabaco, tomate y pimiento (Kenyon *et al.*, 2014). Como lo mencionan Moreno y Fereres (2012) tiene una amplia gama de hospederos, infectando al menos 430 especies de 51 familias de plantas dicotiledóneas (Dikova y Lambey, 2010). Los síntomas inducidos por AMV generalmente se presentan en forma de moteado de color amarillo a verde pálido, que se desarrolla entre las nervaduras de los folíolos y, que puede o no, estar acompañado de enanismo (Bujarski *et al.*, 2019). En este estudio, AMV fue el virus con el mayor número de detecciones, presentándose en 25 plantas infectadas (de un total de 38), de las cuales 7 fueron malezas de las especies *Chenopodium* sp., *B. rapa*, *M. nicaeensis* y *A. retroflexus*. Las especies de importancia agronómica infectadas con AMV fueron alfalfa, papa, cilantro y albahaca. Este virus se caracteriza por distribuirse en todo el mundo y puede transmitirse mecánicamente por polen, semilla y de manera no persistente por varias especies de áfidos (Kenyon *et al.*, 2014), lo que explicaría su amplia distribución y diseminación. Se sospecha que AMV puede ser transmitido por todas las especies de áfidos que atacan la alfalfa, pero como lo indica Bujarski *et al.* (2019) el pulgón verde de la alfalfa (*Acyrtosiphon pisum*) es el vector más importante. En este estudio se detectó en áfidos

de las especies: *M. euphorbiae*, *M. carnosum* y *H. lactucae*, ninguno nombrado en la literatura como vector de AMV y tampoco habían sido encontrados en alfalfa, según el “Catálogo de los áfidos de Chile, con plantas hospedadoras y distribuciones regional y provincial” (Nieto Nafria *et al.*, 2016). El pulgón manchado (*T. trifolii*) ha sido ampliamente reportado en la literatura como causante de daños en alfalfa (Cavaliere y Simon, 2019) y en este estudio se encontró en una planta de alfalfa positiva para AMV (P13), pero no en los insectos. El modo de transmisión (no-persistente) contribuye a que el virus no sea detectado por los análisis moleculares en los pulgones, pero si en las plantas de las cuales se alimentaron. Dada las formas de transmisión de AMV, se pueden aplicar una serie de medidas generales de control, como el uso de semillas libres de virus (certificadas), control de propagación del virus desde huéspedes que hibernan mediante separación espacial y control de vectores (pulgones). Importante señalar que los insecticidas tienen un uso limitado en este caso, al ser una transmisión no-persistente.

En el tercer periodo de muestreo realizado a mediados de enero no se presenciaron colonias de áfidos en las plantas muestreadas, porque su aparición inicia principalmente desde el comienzo de la primavera en la zona central del país y va disminuyendo durante el verano a medida que se detiene la brotación (Ripa *et al.*, 2008).

Se ha registrado que, para asegurar su sobrevivencia en el tiempo, los virus de ARN normalmente son objeto de altas tasas de mutación, tiempos cortos de replicación y grandes tamaños de población, por lo que, poseen un alto potencial evolutivo que los acredita como principales patógenos responsables de enfermedades emergentes (Bedhomme *et al.*, 2012). Los virus generan la capacidad de moldearse a las diferentes características del medio, adaptándose así a nuevos hospederos para mantener su permanencia, más aún en ausencia de sus hospederos primarios, generando nuevas variantes e interacciones que aseguran su estadía y desarrollo, logrando expandirse y diseminarse en el largo plazo. Por ello, y porque una vez establecidos estos patógenos es muy difícil su erradicación, es importante conocer cómo se comportan en el campo, cuáles son sus posibles hospederos y/o plantas reservorios, y cuáles son sus posibles insectos vectores. Conociendo estos parámetros podemos desarrollar un plan de manejo preventivo que apunte a estos factores, con un conjunto de toma de decisiones que logren disminuir en un futuro el impacto de una infección en nuestras plantas y por ende en la producción. Estas acciones pueden hacer una gran diferencia en la economía local, sobre todo en la agricultura a pequeña escala como la que se encuentra en rinconada de Maipú, que abastece (en su mayoría) de hortalizas frescas a la zona sur-poniente de la Región Metropolitana de nuestro país.

CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos,

Se determina que se presentan plantas malezas reservorios (*B. rapa*, *Chenopodium sp.*, *U. urens*, *Epilobium sp.*, *Amaranthus sp.*, *M. nicaeensis*, *S. oleraceus* y *Amaranthus retroflexus*) para los virus: TuYV, OPMV, AMV, *Nucleorhabdovirus* y *Cytorhabdovirus*, todos detectados anteriormente en Chile en plantas de cilantro durante el año 2019.

Se detectó BtMV, TuYV y OPMV en cilantro, los cuales no están reportados para este cultivo a nivel mundial, confirmándose la detección realizada en el año 2019.

En cuanto a los áfidos potenciales vectores se detectó: ArLV, TuYV, PLRV, *Nucleorhabdovirus* OPMV y AMV en áfidos de las especies *B. brassicae*, *M. euphorbiae*, *M. carnosum*, *A. solani*, *H. lactucae*, *Aphis nerii*, *M. persicae*, *Cavariella sp.* y en el chinche *Corytucha sp.*

De las 29 muestras de áfidos analizadas con identificación molecular, 21 coincidieron con la identificación previa en base a la matriz morfológica, por lo que, el método DNA barcoding es una buena herramienta complementaria a la identificación morfológica, sobre todo para especies crípticas como son los áfidos.

Este estudio aporta información novedosa acerca de los virus que afectan al cultivo del cilantro, sus potenciales áfidos vectores y plantas reservorios.

Es importante señalar, que es necesario realizar pruebas de transmisión para definir si los áfidos encontrados son efectivamente vectores de los virus identificados en este estudio.

LITERATURA CITADA

Alhubaishi, A., Walkey, D., Weeb, M., Bolland, C. y Cook, A. 1987. A survey of horticultural plant virus diseases in the Yemen Arab Republic. *FAO Plant Prot. Bull.* 35:135-143.

Bedhomme, S., Lafforgue, G. y Elena, S. 2012. Multihost experimental evolution of a plant RNA virus reveals local adaptation and host-specific mutations. *Molecular Biology and Evolution.* 29(5): 1481-1492.

Berdegúe, J., y F. Rojas. 2014. La agricultura familiar en Chile. Rimisp Grupo de Trabajo Desarrollo con Cohesión Territorial. Documento de Trabajo N° 152. 42 p. Rimisp, Santiago, Chile.

Boza, S., Cortés, M., Prieto, C. y Muñoz, T. 2019. Vegetable growing in central Chile: Characterization and attitudes of small farmers. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences ex Agro-Ciencia.* Chillán mayo 2019.35(1): 57-67. ISSN: 0719-3890

Bujarski, J., Gallitelli, D., Garcia-Arenal, F., Pallas, V., Palukaitis, P., Reddy, M.K., Wang, A., and ICTV Report Consortium. 2019. ICTV Virus Taxonomy Profile: Bromoviridae. *Journal of General Virology.* DOI 10.1099/jgv.0.001282.

Cavaliere, J. y Simon, C. 2019. Pulgones en Alfalfa. EEA INTA Las Breñas 2019. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Ministerio de Producción y trabajo. Presidencia de la Nación Argentina. Recuperado desde: https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_lasbrenas_pulgones_alfalfa_2019.pdf

Cruzat, R. y Montes, C. 2009. Resultados y lecciones en detección y caracterización de virus y fitoplasmas en vid. Proyecto de innovación entre IV Región de Coquimbo y VII Región del Maule. Serie de Experiencias de Innovación para el Emprendimiento Agrario, Fundación para la Innovación Agraria. N° 185.666 ISBN N° 978-956-328-025-8.

Dikova, B. y Lambev, H. 2010. Seasonal dynamics of important for *Coriandrum sativum* virus pathogens. *AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY.* Vol.7. N° 1pp. 2015.

Drake, C. 1939. Chilean Tingitoidea (Hemiptera). *Revista de Entomología,* 70(2): 330-334.

Drake, C. and Ruhoff, F.A. 1965. Lacebugs of the World: A catalog (Hemiptera: Tingidae). *Smithsonian Institution U.S. Nat. Mus. Bull.* 243-634.

Du, Z., Chen, J., and Hiruki, C. 2006. Optimization and application of a multiplex RT-PCR system for simultaneous detection of five potato viruses using 18S rRNA as an internal control. *Plant Dis.* 90:185-189.

- EFSA Panel on Plant Health (EFSA PLH Panel). 2014. Scientific Opinion on the pest categorization of Beet leaf curl virus. *EFSA Journal* 2014; 12(10):3847-20. Doi: 10.2903/j.efsa.2014.3847.
- Eigenbrode, S. and Bosque-Pérez, N. 2016. CHAPTER 1: Chemical Ecology of Aphid-Transmitted Plant Viruses. *Vector-Mediated Transmission of Plant Pathogens*. 3-19p. <https://doi.org/10.1094/9780890545355.001>.
- Espinoza, N. 1996. *Malezas Presentes en Chile*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Centro Regional de Investigación Carillanca. Temuco, Chile. 196p. ISBN:956-016-06-2.
- Farzadfar, S., Ahoonmanesh, A., Hossein, M.G., Pourrahim, R., Reza, G.A. 2007. Occurrence and distribution of cauliflower mosaic virus on cruciferous plant in Iran. *Plant Pathology Journal*, 6(1), 22-29.
- Francki, R., Randles, J.W., Dietzgen, R.G. 1989. Letuce necrotic yellows virus. In: *Descriptions of Plant Viruses No. 343*, Association of Applied Biologists, Wellesbourne, UK.
- Fuentes, N, Sánchez, P., Pauchard, A., Urrutia, J., Cavieres, L. y Marticorena, A. 2014. *Plantas invasoras del Centro-Sur de Chile: Una Guía de Campo*. Laboratorio de Invasiones Biológicas (LIB), Concepción, Chile.
- Garrido, M. 2018. Generalidades sobre virus de plantas Universidad Central de Venezuela- Facultad de Agronomía. Instituto de Botánica Agrícola, Maracay. Recuperado desde: <https://n9.cl/qcd5n>
- Gergerich, R. y Dolja, V. 2006. Introducción a los virus vegetales, el enemigo invisible. *The Plant Health Instructor*. Doi: 10.1094/PHI-I-2008-0122-01.
- González, E., Villalobos, S., Rodríguez, A. y Avilés, W. 2017. Cilantro (*Coriandrum sativum* L.) un cultivo ancestral con potencial sub-utilizado. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Centro de Investigación Regional. Campo Experimental Bajío. Celaya, Guanajuato, México. Libro técnico N° 9. Noviembre 2017. ISBN: 978-607-37-0912-5.
- Gray, S., and Gildow, F. 2003. Luteovirus-aphid interactions. *Annual Review of Phytopathology* 41: 539-566.
- Hauser, S., Stevens, M., Mougel, C., Smith, H., Fritsch, C., Herrbach, E. and Olivier Lemaire. 2000. Biological, Serological, and Molecular Variability Suggest Three Distinct Polerovirus Species Infecting Beet or Rape. *Phytopathology* 90(5): 460-466.
- Hermoso de Mendoza, A. 1996. Clave para la identificación de los pulgones de los cítricos españoles. Sociedad Española de Entomología Aplicada (SESA). Levante Agrícola. Recuperado desde: <https://n9.cl/0g0f>
- Hidayet, B., Glucu, C., Ozdemir, I. and Iibagi, H. 2006. Influence of Aphids on the Epidemiology of Potato Virus Diseases (PVY, PVS and PLRV). in the High Alltitude Areas of Turkey. *Pakistan Journal of Biological Sciencies*. 9:759-765. Doi: 10.3923 / pjbs.2006.759.765

Hoffmann, A. 1998. Flora Silvestre de Chile: Zona Central. Cuarta Edición. Ediciones Fundación Claudio Gay. 254p.

Hogenout, S., Ammar, E., Whitfield, A. and Redinaugh, M. 2008. Insect vector interactions with persistently transmitted viruses. Annual Review of Phytopathology. 2008. 46:327–59.

Holman, J., Peña-Martínez, R. y Bujanos-Muñoz, R. 1991. Guía para la identificación y análisis de los pulgones alados (Homoptera: Aphididae) del Bajío, México. Guía para la identificación y análisis de los pulgones alados (HOMOPTERA: Aphididae) del Bajío, México. Folia Entomológica Mexicana. N° 83:5-67 (1991).

Jay, C.N., Rossall, S., Smith, H.G. 1999. Effects of beet western yellows virus on growth and yield of oilseed rape (*Brassica napus*). Journals of Agricultural Science, 133(2), 131-139.

Kenyon, L., Kumar, S., Tsai, W., Hughes, J. 2014. Chapter Six-Virus Diseases of Peppers (*Capsicum* spp.) and Their Control. Advances in Virus Research 90: 297-354. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801246-8.00006-8>.

King, A., Adams, M., Carstens, E., Lefkowitz, E. 2012. Virus Taxonomy, Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier. Londres.

Latham, L.J., Smith, L.J., Jones, R.A.C. 2003. Incidence of three viruses in vegetable brassica plantings and associated wild radish weeds in south-west Australia. Australasian Plant Pathology, 32(3), 387-391.

Li, Q., Deng, J., Chen, C., Zeng, L., Lin, X., Cheng, Z., Qiao, G., Huang, X. 2020. DNA Barcoding Subtropical Aphids and Implications for Population Differentiation. Insects 2020, 11, 11. <https://doi.org/10.3390/insects11010011>

Mackenzie, D., Mclean, M., Mukerji, S. y Green, M. 1997. Improved RNA extraction from woody plants for the detection of viral pathogens by reverse transcription-polymerase chain reaction. Plant Disease. 81: 222–226.

Mesa, M., González, M., Gutiérrez, P. y Marín M. 2016. Diagnóstico serológico y molecular del Potato leafroll virus (PLRV) en tubérculos-semillas de papa en Antioquia, Colombia. Acta Agron. (2016) 65(2). 204-210. ISSN 0120-2812. Doi: <http://dx.doi.org/10.15446/acag.v65n2.50764>.

Milosevic, D., Ignjatov, M., Marjanovic, A., Stankovic, I., Nikolic, Z., Tamindzic, G. and Krstic, B. 2019. Molecular characterization of Turnip yellows virus- a new pathogen of mustards in Serbia. Ratar povrt. 2019, 56(3):82-87. Doi: 10.5937 / ratpov56-23514.

Moreno, A. y Fereres, A. 2012. Virus y enfermedades víricas de las hortalizas en la cuenca mediterránea: X virus de los amarillos necróticos de la lechuga (Rhabdoviridae, Cytorhabdoviridae). En: Avances de la investigación de virus, 2012. Science Direct. Desde: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/lettuce-necrotic-yellows-virus>

Muñoz, M. 2021. Boletín de Hortalizas: Temporada 2020-2021. Publicación de la Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. Disponible en: <https://bit.ly/3EYqpX8>

Navarro, C. y García-Marí. 2014. Guía de identificación: Pulgones y sus enemigos naturales. Instituto Agrofoestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia. I.S.B.N.: 978-84-941508-8-3. <https://n9.cl/2u1ab>

Nieto Nafría, J. y Mier Durante, M. 1998. Fauna Ibérica. Hemiptera Aphididae I. Ramos Sánchez, M.A., ed. Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC. Madrid.

Nieto Nafría, J., Fuentes-Contreras, E., Castro Colmenero, M., Aldea Piera, M., Ortego, J. y Mier Durante, M. 2016. Catálogo de los áfidos (Hemiptera, Aphididae) de Chile, con plantas hospedadoras y distribuciones regional y provincial. Graellsia, 72(2): e050. <http://dx.doi.org/10.3989/graellsia.2016.v72.167>

Observatorio Feria Libre. 2013. Características Económicas y Sociales de Ferias Libres de Chile. FAO, ODEPA y ASOF, Santiago, Chile.

Oliveira, M. y Kitajima, E. 1981. Biological properties of Celery yellow mosaic virus (in Port.) Phytopathology. Brazil. 6:35-46.

Pirone, T. and Blanc, S. 1996. Helper- dependent vector transmission of plant viruses. Annual Review of Phytopathology. 34:227-247.

Prado, E. 1990. Presencia en Chile de *Corytucha ciliata* (SAY) (Hemiptera: Heteroptera: Tingidae). Revista Chilena de Entomología. 1990, 18:53-55.

Prado, E. 1991. Artrópodos y sus enemigos naturales asociados a plantas cultivadas en Chile. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Boletín técnico n° 169. Santiago, Chile.

Rouhani, M., Samih, M.A. and Kalantari, S. 2012. Insecticide effect of silver and zinc nanoparticles against *Aphis nerii* Boyer de fonscolombe (Hemiptera: Aphididae). Chilean Journal of Agricultural Research. 72(4).

Sharma, P., Verma, R.K., Mishra, R., Choudhary, D.K., Gaur, R.K. 2013. First report of Turnip yellow virus (TuYV) in *Brassica juncea* (indian mustard) in India. New Disease Reports, 27,21-21.

Simbaqueba, R., Serna, F., Posada-Florez, F. 2014. Curaduría, morfología e identificación de áfidos (Hemiptera: Aphididae) del museo entomológico UNAB. Primera aproximación. Boletín Científico Museo Historia Natural 18 (1) enero - junio 2014. 221 – 245.

Stevens, M., McGrann, G. and Clark, B. 2008. Turnip yellow virus (syn Beet western yellows virus): an emerging threat to European oilseed rape production? HGCA. Research Review N° 69.

Taliansky, M. and Ryabov, E. 2008. Umbravirus. Encyclopedia of Virology (Third Edition). Academic Press 2008. 209-213p. ISBN 9780123744104. <https://doi.org/10.1016/B978-012374410-4.00524-0>.

Tang, J., Lebas, B., Liefiting, L., Veerakone, S., Wei, T. and Ward, L. 2016. Opium poppy mosaic virus, a new umbravirus isolated from *Papaver somniferum* in New Zealand. *Archives of Virology* 161:197–201 (2016) <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2651-4>.

Tejada, H. 2014. Venta directa en ferias locales: el proceso de modernización de las ferias libres en Chile. p. 93-96. En O. Sotomayor, M. Rodrigues, y A. Rodríguez (coord.) *Agricultura familiar y circuitos cortos: Nuevos esquemas de producción, comercialización y nutrición*. CEPAL, Santiago, Chile.

Traicevski, V. 2000. Celery mosaic virus. Information Notes. Department of primary industries. <http://www.dpi.vic.gov.au>

Vega, C. 2012. Evaluación de cinco cultivares de cilantro (*Coriandrum sativum* L.) bajo invernadero en la región de La Araucanía. 8-10p. Tesis para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de la Frontera. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales. Temuco, Chile.

Walker, J., Blasdel, K., Calisher, Ch., Dietzgen, R., Kondo, H., Kurath, G., Longdon, B., Stone, D., Tesh, R., Tordo, N., Vasilakis, N. and Whitfield, A. 2018. ICTV Report Consortium. 2018, Perfil de taxonomía de virus de ICTV: Rhabdoviridae, *Journal of General Virology*, 99: 447 – 448.

Wang, F., Wu, Q.F., Zhou, B.G., Gao, Z.L., Xu, D.F. 2015. First report of Turnip yellows virus in tobacco in China. *Plant Disease*, 99(12), 1870-1870.

Xu, H. and Nie, J. 2007. Identification, characterization, and molecular detection of Alfalfa mosaic virus in Potato. *Phytophology*. 2006:96:1237-42. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-1237>.