

Identificación de virus que se transmiten a través de semillas de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) y frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walpers) en áreas productoras de Venezuela

Identification of seed borne viruses in growing areas of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walpers) in Venezuela

Z. Peña y G. Trujillo

Barquisimeto, Edo. Lara. INIA – Lara. Apdo. 592.

Resumen

Para conocer la incidencia de virus que se transmiten a través de la semilla en áreas productoras de caraota y frijol, se evaluaron 53 materiales usados como semilla. Se seleccionaron aislamientos virales provenientes de las semillas sembradas en umbráculo protegido contra insectos; identificándose los aislamientos virales de caraota como: "Colombiana 1", "Colombiana 2" y "Tucutunemo" y el de frijol como "Ojo negro". Para este estudio se multiplicó el material, se realizaron las pruebas de estabilidad en savia, se estudió la transmisión a través de insectos, se estudió el rango de hospedantes, microscopía electrónica y se realizaron pruebas serológicas con los antisueros disponibles. En tres aislamientos virales de caraota se identificó, el virus del mosaico sureño de la caraota (BSMV) en muestra del Valle de Tucutunemo, estado Aragua, en un material procedente de Colombia colectado en Sanare, estado Lara, se detectó infección viral simple con el BSMV y doble el BSMV y el virus del mosaico común de la caraota (BCMV). En frijol se identificó el virus del mosaico severo del frijol (CpSMV) a partir de semilla de los estados Portuguesa y Falcón. Con este estudio se ratifica la necesidad del control fitosanitario para la exclusión de materiales nacionales o importados no aptos para la siembra y se corrobora la importancia de la certificación de semillas.

Palabras clave: virus, transmisión por semilla, incidencia, identificación, leguminosas

Abstract

With the purpose of knowing the incidence of seed borne viruses in production areas of beans and cowpea, 53 materials used as seed were evaluated. Viral isolations coming from seeds sowed in shelter protected against insects; being identified the beans isolations like: "Colombian 1", "Colombian 2" and "Tucutunemo"; and those of cowpea like "Black Eye", were selected. Material was multiplied, stability test in sap were carried out, vector transmission was studied, the hosts range was determined, serological tests with the available antibody were carried out. In three viral isolations of beans, the bean southern mosaic virus (BSMV) was identified in a sample of Tucutunemo Valley, Aragua state. In the material coming from Colombia collected in Sanare, Lara state, it was detected simple viral infection BSMV and double infection BSMV and bean common mosaic virus (BCMV). In cowpea, it was identified the cowpea severe mosaic virus (CpSMV) from seed of Portuguese and Falcon states. Through this essay was corroborated the necessity of establishing a phytopathological control, for the exclusion of national or imported seed materials not suitable for sows, and also the importance of seed certification.

Key words: virus, seed borne viruses, incidence, identification, leguminous

Introducción

En el rubro fabáceas el aspecto sanidad de la semilla ha sido señalado como una limitante del rendimiento, condición que le impide colocarse entre los renglones de rubros competitivos a nivel nacional (17). Cerca de uno de cada siete virus de plantas que existen son transmitidos a través de la semilla (22). Los virus llevados en la semilla constituyen una de las fuentes de inóculo primario que permiten la presencia de virosis desde muy temprano en los cultivos de caraota y frijol, considerándose al: virus del mosaico común de la caraota (*Bean common mosaic virus*, BCMV) y el virus del mosaico del frijol ojo negro (*Blackeye cowpea mosaic virus*, BeCpMV) pertenecientes al grupo Potyvirus, virus del mosaico sureño de la caraota (*Bean southern mosaic*

Introduction

In Fabaceas crop, the seed healthy aspect have been pointed out like a yielding limiting, a condition that do not permit its location between competitive crops at national level (17). One of seven plant virus is transmitted through seed (22). Virus conducted by seed represent a primary inoculum source that permits viruses presence in beans and cowpea crops early. Considering to *Bean common mosaic virus* (BCMV) and *Blackeye cowpea mosaic virus* (BeCpMV) belonging to Polyvirus group, *Bean southern mosaic virus* (BSMV) Sabemovirus group, *Cowpea severe mosaic virus* (CSMV) Comovirus group, *Cucumber mosaic virus* (CMV) Cucumovirus (3), *Alfalfa mosaic virus* (AMV) (23) among others, as ones of great importance for this

virus, BSMV) grupo Sobemovirus, virus del mosaico severo del frijol (*Cowpea severe mosaic virus*, CpSMV) grupo Comovirus, virus del mosaico del pepino (*Cucumber mosaic virus*, CMV) grupo Cucumovirus (3), virus del mosaico de la alfalfa (*Alfalfa mosaic virus*, AMV) (23) entre otros; como los de mayor importancia por esta forma de transmisión. Las pérdidas por ejemplo, causadas por el BCMV pueden variar entre 53 al 96% (10). De los 70 o más virus que afectan al cultivo de la caraota, siete se transmiten por la semilla (8); y existen por lo menos unos 15 virus que pueden ser transmitidos en cultivos sucesivos de frijol a través de lotes de semilla infectada; particularmente semillas cuya calidad fitosanitaria ha sido descuidada (14).

La importancia del estudio de este tipo de transmisión radica en que las semillas constituyen un eficiente medio para la transferencia de microorganismos fitopatógenos. Además, más del 50% de las enfermedades importantes en caraota se pueden transmitir por semilla (10, 12). Los agricultores tienen que cambiar cada cierto tiempo sus cultivares debido a la "degeneración" de la semilla, lo que esta ligado a la transmisión de los virus BCMV y el virus del mosaico común necrótico de la caraota (BCMNV) por la semilla (7). Por la relevancia que tiene esta forma de transmisión en los procesos epidemiológicos se plantea el siguiente trabajo de investigación para conocer la incidencia de los virus que se transmiten a través de semilla de caraota y frijol provenientes de diferentes áreas productoras del país.

transmission way. For instance, lost caused by BCMV can vary from 53 – 96% (10). From 70 or more virus that affect bean crop, seven are transmitted by seed (8) and there are 15 viruses that can be transmitted in cowpea successive crops approximately, through infected seed portion especially those without phytosanitary quality (14).

It is important to study this transmission kind because seeds are an efficient medium for transferring of phyto pathogens microorganisms. Besides, more of 50% of important diseases in bean can be transmitted by seed (10, 12). Farmers has to change their cultivars sometimes due to seed degeneration which is related to the virus BCMV transmission and mosaic common necrotic of bean virus (BCMNV) by seed (7). Due to relevance of this transmission way have in epidemiological process; this paper is carried out with the purpose of knowing the virus incidence transmitted through bean and cowpea seed from different productive areas of the country.

Materials and methods

The evaluation of 53 materials used as seed for knowing the virus incidence from principal producers of bean and cowpea was carried out in Vegetable virology Laboratory of Agronomy Faculty, Universidad Central de Venezuela. Four viral isolates were selected from every materials of seeds sowed at greenhouse protected against insects to be totally identified and for presenting symptoms identified in studied population. Viral

Materiales y métodos

En el laboratorio de Virología Vegetal, en la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, se llevo a cabo la evaluación de 53 materiales usados como semilla para conocer la incidencia de virus que se transmiten a través de semilla de las principales áreas productoras de caraota y frijol. Fueron seleccionados 4 aislamientos virales de todos los materiales provenientes de semillas sembradas en umbráculo protegido contra insectos, para ser identificados plenamente, y por presentar los síntomas identificados en la población estudiada. Los aislamientos virales se identificaron como: "Colombiana 1", "Colombiana 2", "Tucutunemo" y "Ojo negro", proveniente los tres primeros de caraota y el último de semillas de frijol respectivamente. Para el estudio: a) se multiplicó el material; b) se realizaron las pruebas de estabilidad en savia; c) se realizaron los estudios de transmisión a través de insectos con áfidos y coleópteros; d) se comprobó el rango de hospedantes y; e) se observó a través de microscopia electrónica y se realizaron pruebas serológicas con los antisueros disponibles en el laboratorio de Virología Vegetal de la Facultad de Agronomía, de la Universidad Central de Venezuela.

Reproducción de los síntomas virales. Se empleó la metodología de French y Hebert (11) con el fin de lograr la multiplicación de los síntomas virales, inoculando con jugo crudo de planta enferma un lote de 48 plantas sanas de 7 días de edad de la misma variedad, que crecieron en

isolations were identified as: "Colombian 1", "Colombian 2", "Tucutunemo" from bean, and "Black eye" from cowpea. Material was multiplied; stability test at sap was made, transmission studies through insects with aphids and coleopterases; host range was confirmed; observations through electron microscopy were carried out and serologic tests with available anti serum in the Vegetable Virology Laboratory of Agronomy Faculty, Universidad Central de Venezuela.

Viral symptoms reproduction.

French and Hebert (11) methodology was used, with the purpose of achieving the multiplication of viral symptoms by inoculating with crude juice of a disease plant a lot of 48 health plants of 7 days age of same variety growing in pots at a reason of 3 plants/pot and two daily irrigation were applied for its maintenance, each 8 days aspersions with liquid foliar fertilizer were made (foliar NITROFOSKA) and a insecticide, acaricide and fungicide mix.

To obtain crude juice, disease tissue was taken from young leaves, it was weight and finely cut, macerated in a cold and sterilized mortar, in presence of potassium phosphate buffer at pH 7.5 and 0.1 M in proportion of 1:4 (p/v). Plants with only primary leaves were powdered with carborundum abrasive 600, and with index fingertip impregnated with inoculums, soft rubs were made in all area of primary leave, after with a wash bottle with distilled water, inoculated leaves were sprayed with the purpose of eliminating excess or

potes, a razón de tres plantas por pote y para su mantenimiento se realizaron dos riegos diarios cuando fue necesario, cada 8 días se hicieron asperensiones con abono foliar líquido (Nitrofoska foliar) y con una mezcla de insecticida, acaricida y fungicida. Para obtener el jugo crudo se tomó tejido enfermo preferiblemente de las hojas jóvenes, se pesó y, se cortó finamente; luego se maceró en un mortero frío esterilizado, en presencia de buffer fosfato de potasio, a pH 7,5 y 0,1 M en proporción de 1:4 (p/v). Las plantas con solo hojas primarias, fueron espolvoreadas con el abrasivo carborundo 600, y con la punta del dedo índice impregnado con el inóculo se realizaron frotamientos suaves en toda el área de la hoja primaria; luego, con una piseta con agua destilada se rociaron las hojas inoculadas, a fin de eliminar los excesos o restos del inóculo. Se dejaron 5 plantas control inoculadas de la misma forma con agua destilada.

Las inoculaciones se realizaron a partir de las cuatro de la tarde, a una temperatura de 22°C, en estas condiciones las plantas inoculadas se mantenían por 24 horas; luego pasaban al umbráculo (26,4°C de temperatura y 77,6% de humedad relativa) hasta observar la aparición de síntomas virales que fueron evaluados a los 5, 10 y 15 días.

Aislamiento del virus. Con la finalidad de obtener material para ser empleado como aislamiento viral, se procedió a inocular un lote de 10 plantas sanas de cada variedad de caraota ('Tenerife', 'Montalbán', 'Tacarigua', 'Magdaleno') y de frijol ('Apure', 'Orituco', 'Tuy'). que fuese fácil de cul-

rest from inoculums. Five control plants were inoculated in the same way with distilled water.

Inoculations were made from 4 pm at a temperature of 22°C. Inoculated plants were kept during 24 hours in this conditions, after they were taken to the greenhouse (26.4°C temperature and 77.6% relative moisture) to viral symptoms appears, that were evaluated at 5, 10 and 15 days.

Virus isolation.

With the purpose of getting material to be employed as viral isolation, a lot of 10 healthy plants of each bean variety ("Tenerife", "Montalban", "Tacarigua", "Magdalena") and of cowpea ("Apure", "Orituco", "Tuy"), of an easy cultivation and well defined viral symptoms production, for measuring ineffectiveness.

Biological properties determination of each viral isolation.

Stability test in sap. To determine the physical properties of crude juice of disease plants the following tests were carried out: Dilution Final Point (DFP), Thermic Inactivation Point (TIP) and In Vitro Longevity (IVL), by using methodology described by French and Hebert (11). Each test were used healthy bean plants, Tacarigua variety for isolations "Colombian 1", Colombian 2" and "Tucutunemo", whereas cowpea Tuy variety for isolation "Black eye". Crude juice of foliar tissue from inoculated plants with each isolations was used in this tests, making a macerate in a cold and sterile mortar and in presence of potassium phosphate buffer, at pH 7.5 and 0.1 M in proportion of 1:4 (p/v). It was

tivar, que en corto tiempo produjera síntomas virales bien definidos para medir la infectividad.

Determinación de las propiedades biológicas para cada uno de los aislamientos virales

Pruebas de estabilidad en savia. Para determinar las propiedades físicas del jugo crudo de plantas enfermas se realizaron las pruebas: Punto Final de Dilución (PFD), Punto de Inactivación Térmica (PIT) y Longevidad In Vitro (LIV), utilizando la metodología descrita por French y Hebert (11). En cada una de las pruebas se utilizaron plantas sanas de caraota de la variedad Tacarigua para los aislamientos "Colombiana 1", "Colombiana 2" y "Tucutunemo", mientras que se utilizó fríjol de la variedad Tuy para el aislamiento "Ojo Negro". En la realización de estas tres pruebas se utilizó jugo crudo de tejido foliar de plantas inoculadas con cada uno de los aislamientos; maceando en un mortero frío, estéril y en presencia de buffer fosfato de potasio, a pH 7,5 y 0,1 M en proporción de 1:4 (p/v). Se filtró a través de gasa estéril. Estas pruebas se repitieron para confirmar los resultados obtenidos y se describen a continuación:

Punto Final de Dilución (PFD). En nueve tubos de 7,5 cm de largo, con 0,1 cm de espesor y 1 cm de diámetro, previamente esterilizados se le agregó nueve mililitros de agua destilada por tubo; luego al primer tubo se le adicionó un mililitro de jugo crudo y se rotuló como el tubo con dilución 10^{-1} , se agitó y se tomó con una pipeta estéril un mililitro de la dilución rotulada como 10^{-1} y se añadió al tubo de dilución 10^{-2} , desechando esa

filtered through sterile gauze, these tests were repeated for confirming results obtained and they are described as follows:

Dilution Point Final (DPF). In nine tube of 7.5 cm long, with 0.1 cm width and 1 cm diameter, previously sterilized nine mL of distilled water per tube were added, after to first tube it was added 1 mL of crude juice and was named as dilution tube No. 10^{-1} , it was agitated and taken with a sterile pipette 1 mL of named dilution like 10^{-1} , and it was added to dilution tube No. 10^{-2} , throwing away that pipette and continuing like that for the rest of dilution tubes: 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} to 10^{-9} . Three plants per pot and per dilution were inoculated, and in the same way, three plants were inoculated with crude juice without diluting and three with distilled water as control. For plants inoculation it began with dilution 10^{-9} to finishing with pure crude juice, with the previous carborundum apply 600, taking into account the washing of inoculums and carborundum excess, as hands between each inoculation.

Thermic Inactivation Point (TIP). The following temperature series was evaluated: 45°C, 50°C, 55°C, 60°C, 65°C, 70°C, 75°C, 80°C, 85°C, 90°C and 95°C. To the tubes used, 1 mL of crude juice was added. Every tube used was added 1 mL of crude juice. Each tube was introduced in Water Bath during 10 min. After, juice was cold in a rapid way by using a water spout and 3 plants per pot were inoculated with crude juice to environmental temperature and 3 with sterile distilled water, as a control.

In Vitro Longevity (IVL). Crude juice was obtained from foliar

pipeta, siguiendo igual procedimiento para el resto de los tubos con las diluciones: 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} hasta la 10^{-9} ; Luego se procedió a inocular tres plantas por pote, por dilución, y de igual forma se inocularon tres plantas con jugo crudo sin diluir y tres con agua destilada estéril como control. Para la inoculación de las plantas se comenzó con la dilución 10^{-9} hasta llegar al jugo crudo puro, previa aplicación de Carborundo 600 y con la precaución de lavar el exceso de inóculo y carborundo, al igual que, las manos entre cada inoculación.

Punto de Inactivación Térmica (PIT). Se evaluó la siguiente serie de temperaturas: 45°C, 50°C, 55°C, 60°C, 65°C, 70°C, 75°C, 80°C, 85°C, 90°C y 95°C. A los tubos utilizados se les agregó un mililitro de jugo crudo. Cada tubo se introdujo en un baño de María, por espacio de 10 minutos, luego se procedió a enfriar el jugo rápidamente en agua de chorro y se inocularon tres plantas por pote, por temperatura de igual forma se inocularon tres plantas con jugo crudo a temperatura ambiental y tres con agua destilada estéril, como control.

Longevidad In Vitro (LIV). Se obtuvo jugo crudo de tejido foliar de plantas inoculadas con cada uno de los aislamientos; macerando las hojas en un mortero frío, estéril y en presencia de buffer fosfato de potasio, a pH 7,5 y 0,1 M en proporción de 1:4 (p/v). Se filtró a través de gasa estéril, luego se inoculó con jugo crudo tres plantas por pote, por cada intervalo de tiempo (0, 24, 32, 48 y 72 horas) que el jugo crudo fue dejado a temperatura ambiente y protegido. Previamente al jugo crudo se le agregó 0,1

tissue of inoculated plants with each isolates, by macerating leaves in a cold mortar, sterile and in presence of potassium phosphate buffer, to pH 7.5 and 0.1 M in proportion of 1:4 (p/v). It was filtered through sterile gauze, after three plants per pot were inoculated with crude juice, per each time interval (0, 24, 32, 48 and 72 hours) that crude juice was left at a environmental temperature and protected. Previously to crude juice it was added 0,1 mL of merthiolate, for avoiding contaminant agents.

Insect transmission.

Transmission by aphids:

Applying methodology described by French and Hebert (11) aphids from healthy breeding of specie *Myzus persicae* (Suizer), *Aphididae* family, *Aphidinae* sub-family (identified at Agriculture Zoology Institute, UCV), maintained on cowpea healthy plants, *Orituco* variety in a cage protected from insects; aphids were taken with a humid fine paintbrush and placed in a Petri dish containing humid filter paper and during 60 min aphids were without feed, then a period for virus acquisition was permitted, by introducing in Petri dish diseases leaves tissues pieces taken from material infected with virus, previously identified. Aphids were in contact with disease tissue during 10 min, being collected and transferred to healthy plants, putting 6 aphids per plant. 120 min later, aphids were got off the plants by the application of a insecticide and plants were translated to greenhouse for the subsequent symptoms observation.

Coleopteras transmission:

Coleopteras from specie *Andrector*

mL de merthiolate, a fin de evitar la presencia de agentes contaminantes.

Transmisión mediante insectos

Transmisión por áfidos. Aplicando la metodología descrita por French y Hebert (11) se utilizó áfidos provenientes de crías sanas de la especie *Myzus persicae* (Sulzer), familia Aphididae, subfamilia Aphidinae (identificados en el Instituto de Zoología Agrícola de la UCV) que fueron mantenidas sobre plantas sanas de frijol de la variedad Orituco en una jaula protegida de insectos; los áfidos fueron tomados con un pincel fino humedecido y colocados en una placa de petri que contenía papel de filtro humedecido, y por espacio de 60 min. se sometieron los áfidos al ayuno; luego se les permitió un periodo para la adquisición del virus, para ello fueron introducidos en una placa de petri trozos de tejido de hojas enfermas tomados del material infectado con el virus, previamente identificado. Los áfidos se colocaron en contacto con el tejido enfermo por espacio de diez min.; luego, con la ayuda de un pincel, se colectaron y se transfirieron a las plantas sanas, colocando seis áfidos por planta. Transcurridos 120 min., se retiraron los áfidos de las plantas con la aplicación de un insecticida y las plantas se trasladaron al umbráculo para posterior observación de los síntomas.

Transmisión por coleópteros. Se colectaron en siembras de caraota en el campo experimental del INIA (Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas de Maracay, Edo. Aragua), coleópteros de la especie *Andrector arcuatus*

arcuatus (Oliver) Crisomelidae family, *Galerucinae* sub family (identified at Agricultural Zoology Institute, UCV) were collected in bean crop sowing at experimental field of INIA (Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas de Maracay, Edo. Aragua). Coleopterass were located at green packing close with organza tissue sustained with elastic bands; it were feed with healthy leaves of bean during 2 days, with the purpose of cleaning coleopterass of any virus could be at field in where they had been collected. After this time, coleopterass was located at three healthy plants of 9 days age, as a control for test, they were fed during 24 hours; after, 4 lots of 6 coleopterass per green packing containing disease leaves taken from plants previously inoculated with each of viral isolations and they were feed during 24 hours for virus acquisition. After this time, coleopterass were transferred to healthy plants of bean or cowpea depending on viral isolation that would like to transmit, 2 coleopterass.healthy plant¹, 3 replications per viral isolation, feeding during 24 hours. Once coleopterass were transfer to plants for their feeding, they were covered with an isolating plastic camera, design for this inoculation type. By finishing feeding period or virus inoculation, insects were eliminated and plants were taken to the greenhouse for evaluating symptoms at day 5, 15 and 30. In those plants that showed viral symptoms. Virus presence was confirmed through virus recuperation test by mechanic inoculation, by using for this tests bean healthy plants

(Oliver) familia Crisomelidae, subfamilia Galerucinae (identificados en el Instituto de Zoología Agrícola de la UCV); los coleópteros se colocaron en envases de vidrio tapados con tela de organza sujeta con cintas elásticas; se alimentaron con hojas sanas de caraota por espacio de dos días, con la finalidad de limpiar los coleópteros de algún virus que pudiese estar en el campo donde fueron colectados. Una vez transcurrido este tiempo se procedió a colocar los coleópteros sobre tres plantas sanas de nueve días de edad, como control de la prueba, se alimentaron durante 24 horas; luego se formaron cuatro lotes de seis coleópteros por frascos de vidrio que contenían hojas enfermas tomadas de plantas previamente inoculadas con cada uno de los aislamientos virales, y se sometieron a un periodo de alimentación de 24 horas para la adquisición del virus; transcurrido ese tiempo los coleópteros se transfirieron a plantas sanas de caraota o frijol dependiendo del aislamiento viral que se deseaba transmitir, dos coleópteros.planta⁻¹ sana, tres repeticiones por aislamiento viral, se dejaron alimentar por 24 h. Una vez transferidos los coleópteros a las plantas para su alimentación se cubrieron con una cámara plástica aislante diseñada para este tipo de inoculación. Al finalizar el periodo de alimentación o de inoculación del virus, los insectos fueron eliminados, y las plantas se llevaron al umbráculo para evaluar síntomas a los 5, 15 y 30 días. En aquellas plantas que manifestaron síntomas virales, la presencia de virus se comprobó mediante la prueba de recuperación del virus mediante inocu-

Tacarigua variety, for bean isolations "Colombian 1", "Colombian 2" and "Tucutunemo" whereas cowpea *Tuy* variety for cowpea "Blackeye" isolation

Differentials Host Evaluation.

Species of differentials host proposed by Hampton *et al.* (13) and Rowell and Gibbs (2) were evaluated looking for a good host. Plants of *Amarantaceas* (*Gomphrena Globosa* L.), *Quenopodiaceas* (*Chenopodium amaranthicolor* Coste & Reyn, *Ch. Quinoa* Wild and *Ch. album* L.), *Cucurbitaceas* (*Cucumis sativus* L. and *C. Pepo* L.) and *Solanaceas* (*Nicotiana tabacum* L., *N. glutinosa* L., *Datura stramonium* L. and *D. metel* L.).

Serologic Tests. There are special agars for serology. In this case it was used a noble agar at a reason of 0.85 g dissolved in 100 mL of sterile distilled water; for avoiding the contaminant agents, it was added 3 mL of sodium azide prepared separately by adding 0.25 g per each 100 mL of sterile distilled water mixed with 97 mL of liquid agar in a Erlenmeyer flask whose content was divided in two equal parts and each one was added 0.5% of sodium dodecyl sulphate (SDS) and it were taken to the autoclave. SDS is an anionic detergent use with the purpose of obtaining the virus fractioning, in case of flexible viruses (5). Liquid agar was flowed in Petri dish, cells of 5 mm diameter were opened; at the center a cell for anti serum was opened and around it, 6 equidistant cells to samples to be identified, by forming a circle around central cell of 2,5 cm approximately. SBMV and CpSMV

lación mecánica, utilizándose para estas pruebas plantas sanas de caraota de la variedad Tacarigua para los aislamientos de caraota "Colombiana 1", "Colombiana 2" y "Tucutunemo", mientras que se utilizó fríjol de la variedad Tuy para el aislamiento de fríjol "Ojo Negro".

Evaluación de los hospedantes diferenciales. En la búsqueda de un buen hospedante para hacer despistajes rápidos se evaluó las especies de hospedantes diferenciales propuestos por Hampton y colaboradores (13) y Boswell y Gibbs (2). Fueron evaluadas plantas indicadoras de las familias: Amarantáceas (*Gomphrena globosa* L.), Quenopodiáceas (*Chenopodium amaranthicolor* Coste & Reyn, *Ch. quinoa* Willd. y *Ch. album* L.), Cucurbitáceas (*Cucumis sativus* L. y *C. Pepo* L.) y Solanáceas (*Nicotiana tabacum* L., *N. glutinosa* L., *Datura stramonium* L. y *D. metel* L.).

Pruebas serológicas. Para la realización de esta prueba existen agares especiales para serología, en nuestro caso fue utilizado agar noble a razón de 0,85 g que fue disuelto en 100 mL de agua destilada estéril; para evitar la acción de contaminantes se añadió 3 mL de azida de sodio, que se preparó a parte, agregando 0,25 g por cada 100 mL de agua destilada estéril; que se mezclaron con 97 mL de agar líquido en una fiola, el contenido de esta fiola se dividió en dos partes iguales, y a una de esas partes se le agregó 0,5% de sulfato dodecil de sodio (sodium dodecyl sulfate, SDS), y se llevó al autoclave. El SDS es un detergente aniónico usado con la finalidad de lograr el fraccionamiento

anti serum of Vegetable Virology Laboratory of Agronomy Faculty, Universidad Central de Venezuela were used for this test. Observations were made at 24 and 48 hours.

Electron Microscopy: By applying methodology of negative coloring, a drop of viral suspension was examined, diluted on a copper grill previously covered with a thin film of nitro cellulose (collodium) and evaporated carbon; a minute later with a sterile filter paper the excess of liquid on the grill was cleaned and dried with uranil acetate. Two minutes later the uranil excess was retired with filter paper; grills was observed through transmission microscopy 30000x (Hitachi H-300) of INIA, for determining viral particles shape and size (6).

Results and discussion

Different viral symptomatology developed in studied samples were joined in 4 representatives viral isolations of the general symptomatology observed. They involved producers' areas of bean and cowpea. Selection of 4 isolations yield to the time and space required for studying each of samples in a precise way.

Isolations from bean.

"Colombian 1"

Virus isolation: Bean (*Tacarigua* variety) virus multiplication was efficient by permitting maintenance and availability in live material during research; behavior of this variety confirms previously studies (18, 21).

Biological properties of

del virus, en el caso de que se trate de virus flexuosos (5). Se procedió a vaciar el agar líquido en las cajas de petri, al solidificar se procedió a abrir celdas de cinco milímetros de diámetro; en el centro se abrió una celda para el antisuero y a su alrededor seis celdas equidistantes a las muestras a identificar, formando un círculo alrededor de la celda central de unos 2,5 cm. Para esta prueba se utilizó el antisuero del SBMV y el antisuero CpSMV del laboratorio de Virología Vegetal de la Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía. Se realizaron observaciones a las 24 y 48 horas.

Microscopía electrónica.

Aplicando la metodología de tinción negativa se colocó una gota de la suspensión viral a examinar diluida sobre una rejilla de cobre, que previamente se cubrió con una película muy delgada de nitrocelulosa (colodión) junto con carbón evaporado; se esperó por espacio de un minuto y luego, con un papel de filtro estéril, se limpió el exceso de líquido que estaba sobre la rejilla y se procedió a teñir con acetato de uranilo, después de dos minutos se retiró el exceso de acetato de uranilo con papel de filtro, las rejillas se observaron a través del microscopio de transmisión 30000x (Hitachi H-300) del INIA; para determinar la forma y tamaño de las partículas virales en estudio (6).

Resultados y discusión

Las diversas sintomatologías virales desarrolladas en las muestras estudiadas se agruparon en cuatro aislamientos virales representativos

isolation determination.

Stability test in sap: By determining the physical properties of crude juice from plants inoculated with "Colombian 1". TIP resulted in 85°C in 10 min. which is an acceptable range for SBMV. In previous studies, values of 85°C to 95°C (3; 4) are mentioned. In relation to PFD this was between 10^{-5} and 10^{-6} , which is in concordance with SBMV (8), although Lamprey and Hamilton says that final dilution is in 10^{-7} (16). LIV was of 168 hours at environmental temperature. There is a lot of reports for SBMV indicating that it keeps infectious even three months or more at environmental temperature (24).

Transmission through insects: it was transmitted mechanically through coleopteras *A. arcuatus* known in Venezuela as SBMV vector (21).

Differentials host evaluation: Symptoms observed agree with those described for SBMV (3, 15, 24) (table 1). Species did not react to be inoculated were: *Chenopodium amaranticolor*, *Ch. Quinoa*, *Ch. album*, *Cucumis sativus*, *C. pepo*, *Nicotiana tabacum*, *N. glutinosa*, *datura stramonium*, *D. metel*, as in previous studies (2, 4, 8). It can be said that *Gomphrena globosa* did not react (8), although have been reported like the specie, no leguminous, susceptible to virus (24).

Electron microscopy and serologic tests: Viral particles of isometric shape were observed. Due to its viral particle shape and immune diffusion test in agar and identity reaction in front to anti serum SBMV, it is confirmed the presence of SBMV (2, 15, 24). (table 2).

de la sintomatología general observada, y que a su vez, involucraron las áreas productoras de caraota y fríjol de interés. La selección de solo cuatro aislamientos obedece al tiempo y espacio necesario requerido para estudiar en forma precisa cada una las muestras.

Aislamientos provenientes de caraota

"Colombiana 1".

Aislamiento del virus. La multiplicación del virus en caraota de la variedad Tacarigua, fue eficiente permitiendo el mantenimiento y disponibilidad en material vivo durante la investigación; el comportamiento de esta variedad confirma lo señalado en estudios anteriores (18, 21).

Determinación de las propiedades biológicas del aislamiento.

Pruebas de estabilidad en savia.

Al determinar las propiedades físicas del jugo crudo de plantas inoculadas con el aislamiento "Colombiana 1", El PIT resultó en 85°C en 10 min. este valor se encuentra en un rango aceptable para el SBMV, en descripciones anteriores se señalan valores de 85°C y de hasta 95°C (3; 4). En relación al PFD este estuvo entre 10^{-5} y 10^{-6} , coincide con lo señalado para el SBMV (8), aunque Lamptey y Hamilton indican que la dilución final es en 10^{-7} (16); La LIV fue de 168 horas a temperatura ambiente, existen numerosos reportes para el SBMV, señalando que éste se mantiene infectivo hasta por más de tres meses a temperatura ambiente (24).

Transmisión a través de insectos. El aislamiento "Colombiana 1" fue transmitido mecánicamente y

"Colombian 2"

Virus isolation. By inoculating *Tacarigua* variety it were observed chlorotic lesions of 0.2 mm diameter approximately in primary leaves and systemic mosaic in trifoliate leaves, and leaves gave a fatty aspect with ampoules. This variety is excellent for virus reproduction.

Biological properties of isolation determination.

Stability test in sap: TIP at 60°C in 10 min is at range of 50°C to 65°C, corresponding to BCMV (1, 3); PFD agree with those reached by BCMV in different studies (10^{-3} , 10^{-4}). In relation to LIV, it was of 24 hours, according to range for BCMV (1, 2).

Transmission through insects:

Virus could be transmitted by aphid *M. persicae* with a low transmission percentage which confirm that this aphid transmit virus in a no persistent way (18, 19) and the transmission percentage can be variable, according to employed variety (20).

Differentials host evaluation:

During the evaluation, species that shows symptoms were: *C. amaranthicolor* y *C. quinoa*, by developing chlorotic local lesions and by showing necrosis and a yellow halo; there were no observed systemic symptoms. Symptomatology developed have been described for these species previously (1, 2, 3).

Electron microscopy and serological tests: Viral particles of 722 mm long, with flexuous or phylamentous shapes. Agar immune diffusion test between available antigen and anti serum resulted negatives (table 2).

These results are in agreement

a través del coleóptero *A. arcuatus* señalado en Venezuela como vector del SBMV (21).

Evaluación de los hospedantes diferenciales. Los síntomas observados durante la evaluación de la gama de hospedantes diferenciales coinciden con los descritos para el SBMV (3, 15, 24) (cuadro 1).

Las especies que no reaccionaron al ser inoculadas fueron: *Chenopodium amaranthicolor*, *Ch. quinoa*, *Ch. album*, *Cucumis sativus*, *C. pepo*, *Nicotiana tabacum*, *N. glutinosa*, *Datura stramonium*, *D. metel*, coincidiendo con lo señalado en caracterizaciones previas (2, 4, 8). Es de resaltar que *Gomphrena globosa*, no reaccionó (8); aunque ha sido reportada como la especie, no leguminosa, susceptible al virus (24).

Microscopía electrónica y pruebas serológicas. Se observó partículas virales de forma isométrica, por la forma de las partículas virales y en la prueba de inmunodifusión en agar la reacción de identidad frente al antisuero SBMV reafirman que se trata del SBMV (2, 15, 24). (cuadro 2).

"Colombiana 2"

Aislamiento del virus. Al inocular la variedad Tacarigua se observaron lesiones cloróticas de aproximadamente 0,2 mm de diámetro en las hojas primarias y mosaico sistémico en las hojas trifoliadas, enrollamiento y las hojas adquirieron un aspecto grasiento con presencia de ampollas. Esta variedad resulta excelente para la propagación del virus.

Determinación de las propiedades biológicas del aislamiento.

with those reported for BCMV that includes the following viruses: *Azuki bean mosaic virus*, *Blackeye cowpea mosaic virus*, *Cowpea* (aphid-borne) *mosaic virus*, *Cowpea vein-banding mosaic virus*, *Peanut blotch virus*, *Peanut stripe virus* and some isolations in soybean, including some races of this virus (3).

"Tucutunemo"

Virus isolation. By inoculating healthy plants of *P. vulgaris*, *Tacarigua* variety, a mosaic was observed in where tonalities well marked (clear and obscure green) are mixed. After mosaic appeared, leaves shows a trend to suffering a narrowing with enlargement and with ampoules presence in foliar sheet; stems are too thick that a twisted is produced which cause size diminishing of plant size. This variety permits virus propagation efficiently.

Determination biological properties isolation.

Stability test in sap: It can be probed that this virus was inactivated at temperatures over 90°C. The maximum dilution in which virus keeps infective was between 10⁻⁴ and 10⁻⁶, in concordance with test accomplished. Besides, crude extract virus of sap at environmental temperature of 22°C was infective during a period of 144 hours according to reported for the SBMV (4, 8, 16).

Transmission trough insects: Virus can be transmitted in a mechanic way through coleoptoreon identified from *Andrector arcuatus* (Oliver) specie, making the transmission with a 33.33% of efficiency (table 2). Transmission by aphids was negative.

Cuadro 1. Reacción de hospedantes diferenciales ante los cuatro aislamientos virales.

Table 1. Differentials host reactions to four viral isolations

Hospedante:	Reacción al aislamiento			
	Caraota			Fríjol
	Tucutunemo	Colombiana 1	Colombiana 2	Ojo negro
<i>C. Amaranthicolor</i>	Ns	Ns	Lln	Lln
<i>C. Quinoa</i>	Ns	Ns	Lln	Lln
<i>C. Album</i>	Ns	Ns	Ns	Ns
<i>Cucumis sativus</i>	Ns	Ns	Ns	Ns
<i>C. pepo</i>	Ns	Ns	Ns	Ns
<i>Nicotiana tabacum</i>	Ns	Ns	Ns	Lln
<i>N. glutinosa</i>	Ns	Ns	Ns	Lln
<i>Datura stramonium</i>	Ns	Ns	Ns	Llc
<i>D. metel</i>	Ns	Ns	Ns	Ns
<i>Gomphrena globosa</i>	Ns	Ns	Ns	Lln
<i>Arachis hipogaea</i>	Ns	Ns	Ns	Ns
<i>Pisum sativum</i>	Llc	Llc, Ss	Ns	Llc
<i>Phaseolus lunatus</i>	Lln	Lln	Lln	Lln
<i>Vicia faba</i>	Ns	Ns	Lln	Ns
<i>Cicer arietium</i>	Ns	Ns	Ns	Ns
<i>Canavalia ensiformis</i>	Ns	Lln	Ns	Lln
<i>Cajanus cajan</i>	Ns	Ns	Lln	Ss
<i>Vigna radiata</i>	Ns	Lln, Ss	Lln	Ss
<i>Lens culinaris</i>	Ns	Ns	Llc	Ns
<i>Dolichus lablab</i>	Ns	Ns	Ns	Llc

Ns: No hubo síntomas;

Ss: síntomas sistémicos: mosaicos, ampollas;

Llc: Lesiones locales cloróticas;

Lln: Lesiones locales cloróticas que se vuelven necróticas, no presentan otros síntomas.

Pruebas de estabilidad en savia. El PIT a los 60°C en 10 min., se encuentra en el rango de 50°C a 65°C, señalado para el grupo BCMV (1, 3); El PFD coincidió con el alcanzado para el BCMV en diferentes estudios (10^{-3} - 10^{-4}); En cuanto a la LIV fue de 24 horas, valor que se encuen-

Differentials host evaluation:
By inoculating differentials host, species that showed symptoms were: *Pisum sativum* and *Pisum lunatus*. *Pisum sativum* inoculated with isolation turned chlorotics, specially leaves nevation, then infection is systemic agree with symptoma-

Cuadro 2. Propiedades biológicas, transmisión por insectos, serología y forma de la partícula de los cuatro aislamientos virales.

Table 2. Biological properties, insects transmission, serology and particle form of the four viral isolations.

Estabilidad en savia	Aislamientos			
	Colombiana 1	Colombiana 2	Tucutunemo	Ojo Negro
■ Punto de inactivación térmica (PTT)	85°C	60°C	90°C	65°C
■ Punto final de dilución (PFD)	10 ⁻⁵ -10 ⁻⁶	10 ⁻³ -10 ⁻⁴	10 ⁻⁴ -10 ⁻⁶	10 ⁻⁴ -10 ⁻⁵
■ Longevidad <i>In Vitro</i> (LIV)	168 Horas	24 Horas	144 horas	96 Horas
Transmisión con insectos	50% (Coleóptero)	16,66% (áfido)	33,33% (Coleóptero)	66,66% (Coleóptero)
Serología	Positiva (SBMV)	Negativa (SBMV)	Positiva (SBMV)	Positiva (CpSMV)
Forma de la partícula	isométrica	Flexuosas	isométrica	isométrica

tra dentro del rango señalado para el BCMV (1, 2).

Transmisión a través de insectos. Se logró transmitir el virus a través del áfido *M. persicae* con un bajo porcentaje de transmisión; esto corrobora que este áfido transmite el virus en forma no persistente (18, 19) y que el porcentaje de transmisión puede ser variable, de acuerdo a la variedad empleada (20).

Evaluación de los hospedantes diferenciales. Durante la evaluación de la gama de hospederos diferenciales las especies que mostraron síntomas fueron: *C. amaranthicolor* y en *C. quinoa*. desarrollando lesiones locales cloróticas, que luego se necrosaron y rodearon de un halo amarillento; no se observaron síntomas sistémicos. La sintomatología desarrollada ha sido descrita para estas especies con anterioridad (1, 2, 3).

Microscopía electrónica y pruebas serológicas. Se observaron partículas virales de 722 nm de largo, de forma flexuosas o filamentosas, algunas con apariencia trucadas y agregadas. Las pruebas de inmunodifusión en agar entre el antígeno y los antisueros disponibles resultaron negativas (cuadro 2).

Todo lo anterior coincide con lo descrito para el grupo del BCMV, que incluye los virus: *Azuki bean mosaic virus*, *Blackeye cowpea mosaic virus*, *Cowpea (aphid-borne) mosaic virus*, *Cowpea vein-banding mosaic virus*, *Peanut blotch virus*, *Peanut stripe virus* y algunos aislamientos en soya, además se distinguen varias razas de este virus (3).

"Tucutunemo".

Aislamiento del virus. Al ino-

thology described by other authors for this specie (3); although is pointed out like susceptible host (4). Meanwhile, at inoculated plants of *Pisum lunatus* local lesion appeared at day 5 and when necroses were rounded by a yellow hale; there were not systemic symptoms manifestation as reported (24). However, this specie has been named as immune to BSMV (8).

Electron Microscopy and Serologic Tests: A lot of viral particles were observed of 26.72 nm diameter approximately, with isometric shape, some of them are empty and some look filled. In test of agar immune diffusion, a reaction of identity happened through precipitation band formation well defined between antigen ("Tucutunemo") and anti serum against SBMV that confirm southern mosaic of bean virus presence (2, 15, 24).

Cowpea isolation.

Blackeye.

Virus isolation. It was confirmed that virus is multiplied and it is maintained in Tuy variety (9) In a efficient way which confirms this variety is appropriated for virus propagation and maintenance.

Determination of biological properties of isolation.

Stability test on sap. PIT at 65°C in 10 min match with previous characterizations of CpSMV, and TIP value is between 65 y 70°C. PFD between 10^{-4} and 10^{-5} match with ranges established by several authors (2, 3). LIV was of 4 days; cultivar used in test as well as the environmental conditions are supposed to influent on it. There are reports of LIV from 5 days for bean of Pinto variety. Other authors says that virus keep infective

cular plantas sanas de *P. vulgaris* var. Tacarigua se observó un mosaico, donde se alternan tonalidades bien marcadas de verde claro y oscuro, a los pocos días, después que aparece el mosaico las hojas afectadas tienden a sufrir un estrechamiento con alargamiento y con la presencia de ampollas en la lámina foliar, los tallos son tan delgados que se produce un retorcimiento, lo que ocasiona la disminución del tamaño de las plantas. Esta variedad permite propagar el virus eficientemente.

Determinación de las propiedades biológicas del aislamiento.

Pruebas de estabilidad en savia. Se pudo constatar que este virus se inactivó a temperaturas por encima de los 90°C, la dilución máxima en la cual todavía se mantenía infectivo estuvo entre los 10^{-4} y 10^{-6} en las pruebas realizadas, además el virus en extracto crudo de savia a temperatura ambiente de 22°C, fue infectivo durante un periodo de 144 horas, coincidiendo con lo reportado para el SBMV (4, 8, 16).

Transmisión a través de insectos. El virus se logró transmitir mecánicamente y a través de coleópteros identificados como de la especie *Andrector arcuatus* (Oliver); realizándose la transmisión con un 33,33% de eficiencia (cuadro 2); la transmisión a través de áfidos fue negativa.

Evaluación de los hospedantes diferenciales Al inocular los hospedantes diferenciales, las especies que mostraron síntomas fueron *Pisum sativum* y *Pisum lunatus*. Las plantas de *Pisum sativum* inoculadas con el aislamiento se tornaron

from 3-5 days, depending on environmental conditions (3, 25).

Transmission through insects.

Virus was transmitted by *A. arcuatus* reported as a vector of CpSMV (2, 3, 9).

Differentials host transmission: Species that showed symptoms were: *Chenopodium amaranthicolor*, *C. Quinoa*, *Nicotiana tabacum*, *N. Glutinosa*, *Gomphrena globosa*, *Phaseolus lunatus* and *Canavalia ensiformis*. Leaves inoculated at day 5 showing chlorotics local lesions of 1 nm diameter approximately that becomes necrotic. Systemic symptoms were not consistent with other authors (2, 3). *Chenopodium* did not react although had been susceptible to virus (2, 3).

Datura stramonium, *Pisum sativum* and *Dolichus lablad* developed chlorotic lesions; *Vigna radiate* and *Cajanus cajan* developed mosaic and ampouling. Virus did not affect leguminous group: *Arachis hypogaea*, *Cicer arietum*, *Vicia faba*, *Lens culinaris*, other species did not react to be inoculated: *Cucumis sativus*, *C. pepo* and *Datura metel*, matching with described for other species (2).

Electron Microscopy Serological Test: A high concentration of polyedric viral particles of 27.27 nm diameter, of isometric shape, by showing an empty appearance and aggregation between viral particles. Agar immune diffusion test in front of anti serum CpSMV, reaction resulted positive; that indicates the presence of CpSMV (3, 25); identified at Aragua Valleys by the first time in Venezuela (9).

cloróticas, sobre todo las nervaduras de las hojas, luego la infección se hace sistémica, coincidiendo la sintomatología con la descrita por otros autores para esta especie (3); aunque también es señalada como hospedante susceptible, aunque no describe los síntomas (4). Mientras que, en las plantas de *Pisum lunatus* inoculadas aparecieron a los cinco días lesiones locales que luego al necrosarse se rodearon de un halo amarillo; no hubo manifestación de síntomas sistémicos, como ha sido reportado (24), sin embargo, esta especie ha sido señalada como inmune al BSMV (8).

Microscopía electrónica y pruebas serológicas. Fueron observadas numerosas partículas virales de aproximadamente unos 26,72 nm de diámetro y de forma isométrica, algunas de apariencia vacía y otras se observan llenas. En la prueba de inmunodifusión en agar, ocurrió una reacción de identidad al formarse una banda de precipitación bien definida entre el antígeno (aislamiento "Tucutunemo") y el antisuero contra el SBMV que reafirma que se trata del *virus del mosaico sureño de la caraota* (2, 15, 24).

Aislamiento proveniente de frijol.

Ojo Negro.

Aislamiento del virus. Se confirmó que el virus se multiplica y mantiene eficientemente en la variedad Tuy (9), confirmandose las bondades de la variedad para la propagación y mantenimiento del virus.

Determinación de las propiedades biológicas del aislamiento.

Prueba estabilidad en savia.

Conclusions

From 4 representative isolations of viral symptomatology studied, 3 viral isolations were obtained from bean by identifying BSMV in two of them. First one comes from Tucutunemo Valley sample (Aragua state) whereas second one was brought from Colombia, collected in Sanare (Lara state), being the first time referred at Lara state.

In relation to fourth isolation, in cowpea was identified CpSMV from Portuguesa and Falcon states.

Virus presence BSMV, BCMV and CpSMV at new producer areas shows its dissemination in country.

Respect to viruses, it is necessary a higher control of purity in seed for sowing, and seed certification.

End of english version

El PIT a los 65°C en 10 min. coinciden con lo señalado en caracterizaciones previas del CpSMV y que el valor del PIT se encuentra entre 65° y 70°C. El PFD entre 10⁻⁴ y 10⁻⁵ coincidió con los rangos señalados por varios autores (2, 3). La LIV fue de 4 días, se cree que influyeron tanto el cultivar empleado en la prueba como las condiciones ambientales; existen reportes de LIV de cinco días para caraota de la variedad Pinto; otros autores señalan que el virus puede permanecer infectivo de 3 a 5 días dependiendo de las condiciones ambientales (3, 25).

Transmisión a través de insectos. El virus fue transmitido por *A. arcuatus* reportado como vector del CpSMV (2, 3, 9).

Evaluación de los hospedantes diferenciales.

Las especies que mostraron síntomas fueron: *Chenopodium amaranthicolor*, *C. Quinoa*, *Nicotiana tabacum*, *N. Glutinosa*, *Gomphrena globosa*, *Phaseolus lunatus* y *Canavalia ensiformis*. las hojas inoculadas a los cinco días presentaron lesiones locales cloróticas de aproximadamente un mm de diámetro, que luego se volvieron necróticas, no se observaron síntomas sistémicos, coincidiendo con otros autores (2, 3). *Chenopodium album*, no reaccionó aunque ha sido señalada susceptible al virus (2, 3).

Datura stramonium, *Pisum sativum* y *Dolichus lablad* desarrollaron lesiones cloróticas; *Vigna radiata* y *Cajanus cajan* desarrollaron mosaico y ampollamiento; el virus no infecto al grupo de leguminosas: *Arachis hypogaea*, *Cicer arietum*, *Vicia faba*, *Lens culinaris*; otras especies que no reaccionaron al ser inoculadas fueron: *Cucumis sativus*, *C. pepo* y *Datura metel*, coincidiendo con lo descrito para estas especies (2).

Microscopía electrónica y pruebas serológicas. Se observó una alta concentración de partículas virales poliédricas de unos 27,27 nm. de diámetro, de forma isométrica, mostrando algunas una apariencia vacía y agregación entre las partículas virales. En la prueba de inmunodifusión en agar frente al antisuero CpSMV la reacción resulto positiva. Todo lo anteriormente señalado, indica que se trata del CpSMV (3, 25); identificado por primera vez en el país en los valles del estado Aragua (9).

Conclusiones

De los cuatro aislamientos representativos de la sintomatología viral estudiada, tres aislamientos virales provenían de caraota, se identifica el BSMV en dos de estos aislamientos; el primero proviene de una muestra del valle de Tucutunemo en el estado Aragua, mientras que el segundo, en un material de caraota negra procedente de Colombia colectado en Sanare, estado Lara, tomándose este hecho, como el primer reporte en el estado Lara.

En cuanto al cuarto aislamiento, se identificó en fríjol al CpSMV a partir de semilla de los estados Portuguesa y Falcón.

La presencia de los virus BSMV, BCMV y CpSMV en nuevas áreas productoras indican su diseminación en el país.

Se ratifica la necesidad, con respecto a las virosis, de un mayor control de la pureza en la semilla para la siembra y se corrobora la importancia de la certificación de semilla y de este tipo de transmisión de virus.

Literatura citada

1. Bos, L. 1971. Bean common mosaic virus. Descript. Plant Viruses. C.M.I. /A.A.B No. 73. 4 p.
2. Boswell K. F. y A. J. GIBBS. 1983. Viruses of Legumes 1983. Descriptions and keys from vide. Research School of Biological Sciences. Canberra, Australia. 117-123 p.
3. Brunt, A.A., K. Crabtree, M.J. Dallwitz, A.J. Gibbs, L. Watson, y E.J. Zurcher. 1997. Plant viruses on line: Descriptions and lists from

- VIDE data base. Version 16 th. January (eds.) (1996 Onwards). URL. <http://biology.anu.edu.au/Groups>
4. Büchen-Osmond, C. 1998. Plant viruses on line: Descriptions and lists from Delta- Format-Version April 1998. <http://life.anu.edu.au/viruses/ICTVdB/1801htm>.
5. Castaño-Zapata, J. y L. Del Rio. 1997. Manual para el diagnóstico de hongos, bacterias, virus y nemátodos. Segunda Edición. Zamorano Academic Press. Zamorano, Honduras. 210 p.
6. Christie, S.R., D.E. Purcifull, W. Crawford y N.A. Hamed. 1987. Electron microscopy of negatively stained clarified viral concentrates obtained from small tissue samples with appendices on negative staining techniques. Bulletin 972. IFAS, University of Florida, Gainesville. 45 p.
7. Cifuentes G., S. Castro y J. Romero. 2001. Transmisión de potyvirus por las semillas de judías en dos variedades comerciales españolas. <http://phaselieu.cesga.es/Castro.pdf>
8. Cupertino, F., T. Lin, E. Kitajima y C. Costa. 1982. Occurrence of southern bean mosaic virus in Central Brazil. Plant. Dis. 66: 742-743
9. Debrot, E. y C.E. Benítez de Rojas. 1967. El virus del mosaico del frijol (*Vigna sinensis* Endl. (Cowpea mosaic virus) en Venezuela. Agron. Trop. 17: 3
10. Ellis, M. A., G. E. Gálvez, y J. B. Sinclair. 1977. Efecto del tratamiento de semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) de buena y mala calidad sobre la germinación en condiciones de campo. Turrialba, 27: 37-39
11. French, E. R. y T. T. Hebert. 1982. Métodos de investigación fitopatológica. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica. 135 p.
12. Hampton, R. O. 1983. Seed-borne viruses in crop germoplasm resources: disease dissemination risk and germoplasm-reclamation technology. Seed Sci. & Technol. 11: 535-546
13. Hampton, R., L. Beczner, D. Hagedorn, L. Bos, T. Inouye, O. Barnett, M. Musil y J. Meiners. 1978. Host reactions of mechanically transmissible legume viruses of the northern temperate zone. Phytopathology 68: 989-997
14. Hampton, R., S. Albrechtsen y S. Mathur. 1992. Seed health (viruses) of *Vigna unguiculata* selections from developing countries. Seed Sci. & Technol. 20:23-38
15. Jayasinghe, W.U. 1982. Chlorotic mottle of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Centro Internacional de la Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia, 157 p.
16. Lampitey, P.N.L. y R.I. Hamilton. 1974. A new cowpea strain of southern bean mosaic virus from Ghana. Phytopathology 64: 1100 – 1104
17. MINISTERIO DE AGRICULTURA y CRIA. 1997. El reto de la agricultura Venezolana: Dificultades y opciones. Dirección General Sectorial de Planificación y Políticas. Caracas. Venezuela. 123 p.
18. Montilla, M.L., G. Trujillo, y N. De Velásquez. 1989. Detección de virus en semillas de caraota negra (*Phaseolus vulgaris* L.) recolectadas en diferentes Estados de Venezuela. Rev. Fac. Agron. (Maracay) 15 (1-2): 129-139
19. Morales, J. 1983. El mosaico común del frijol: Metodología de investigación y técnicas de control. Centro Internacional de Agricultura Tropical. CIAT Cali, Colombia, 26 p.
20. Ordosgoitti, A. 1972. Identificación del mosaico común en caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en Venezuela. Agron. Trop. 22: 29-43

21. Patiño I. y M. Garrido, 1998. Obtención de antisuero contra el virus del mosaico sureño de la caraota mediante una metodología sencilla. Rev. Fac. Agro. (LUZ) 15 (4): 319 - 329
22. Roger, H. 2002. MATTHEW'S. Plant virology. Editorial Academic Press. New York, 1001 pp.
23. Sepulveda P., F. Morales, y M. Castano. 2001. Detección del virus del mosaico de la alfalfa en regiones productoras de frejol (*Phaseolus vulgaris L.*) en Chile. *Agric. Téc.*. [online]. jul. 2001, vol. 61, no.3 [citado 22 Marzo 2005], Web:[http:// www.scielo.cl/scielo](http://www.scielo.cl/scielo)
24. Tremaine, J. y R. Hamilton. 1983. Southern bean mosaic virus. Descriptions of Plant Viruses. C.M.I. / A.A.B. No. 57.
25. Van Kammen, A. 1971. Cowpea mosaic virus. Descriptions of Plant Viruses. C.M.I. / A.A.B. No. 47. 4 p.