



UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

**VIROSIS EN CLONES INTERNACIONALES DE PAPA
(*Solanum tuberosum* L..) EN EL VALLE DE TOLUCA,
ESTADO DE MÉXICO.**



DIRECCION ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
EN PROTECCIÓN VEGETAL.**

**PRESENTA:
VLADIMIR SÁNCHEZ LÓPEZ**

CHAPINGO, MÉXICO. FEBRERO DE 1999.



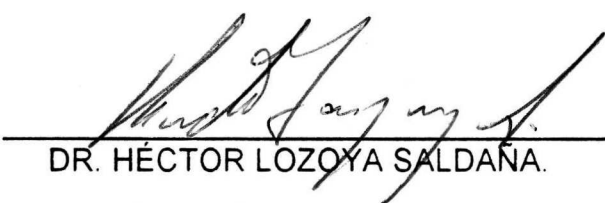
880801

**"VIROSIS EN CLONES INTERNACIONALES DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.) EN
EL VALLE DE TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO"**

Tesis realizada por **Vladimir Sánchez López** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

DIRECTOR:


DR. HÉCTOR LOZOYA SALDAÑA.

ASESOR:


DR. RONEY SOLANO VIDAL.

ASESOR:


DRA. ELIZABETH CÁRDENAS SORIANO.

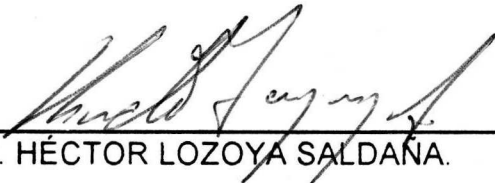
Chapingo, México. Febrero de 1999.

33809

**"VIROSIS EN CLONES INTERNACIONALES DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.) EN
EL VALLE DE TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO"**

El jurado que revisó y aprobó el examen de grado de **Vladimir Sánchez López** autor de la presente tesis de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal estuvo constituido por:

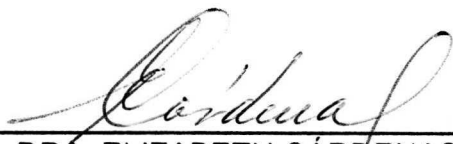
PRESIDENTE:


DR. HÉCTOR LOZOYA SALDAÑA.

ASESOR:


DR. RONEY SOLANO VIDAL.

ASESOR:


DRA. ELIZABETH CÁRDENAS SORIANO.

Chapingo, México. Febrero de 1999.

AGRADECIMIENTOS

A todos los mexicanos que cooperaron con sus impuestos y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por financiar mis estudios de postgrado.

Por su formalidad, interés, apoyo y colaboración en la realización de mi trabajo de investigación, al DR. Héctor Lozoya Saldaña.

Por su disponibilidad y sus aportaciones a esta tesis, a la DRA. Elizabeth Cárdenas Soriano.

Por su contribución y revisión al presente escrito, al DR. Roney Solano Vidal.

Por su ayuda en el Laboratorio de Virus, hago un reconocimiento por ser una persona que disfruta en llevar a cabo su trabajo, a Mario Salazar.

Por efectuar los trámites administrativos correspondientes durante mi estancia, a la Sra. Vicky.

DEDICATORIA

A mis papás con mucho amor: Paulino y Rosa, que gracias a su apoyo y sugerencias he logrado otro objetivo de mi vida, la cual constituye la herencia más apreciada que pudiera recibir, les agradezco la orientación que siempre me han otorgado.

A mis hermanos con mucho cariño que siempre permanezcamos unidos: Eric, Orquídea y Fabiola.

A mis sobrinas: Paola y Aline porque han traído alegría y bendiciones a la Familia.

BIOGRAFÍA

Vladimir Sánchez López nació el 14 de Abril de 1974 en la ciudad conocida como " Tierra del Sol, Cuna de la canción Mixteca " , Huajuapam de León, Oaxaca. Llevó a cabo sus estudios de Primaria de 1979 a 1985 y de Secundaria de 1985 a 1988 con un promedio de 9.0 y 9.5 respectivamente.

Ingresó a La Universidad Autónoma Chapingo (U.A.Ch.) en 1988, efectuando sus estudios de Preparatoria. En 1991 inició la Licenciatura en el Departamento de Zonas Áridas en Bermejillo, Durango. Fue miembro del Cuadro de Honor durante el año lectivo 93-94. Fue aplicador del examen de admisión a la U.A.Ch. en Torreón, Coahuila en 1995. Participó en la "Feria Vocacional Exporienta 95" en Gómez Palacio, Durango. En este periodo realizó su tesis denominada "Caracterización y evaluación de la respuesta de adaptación de cuatro variedades de frijol *Phaseolus vulgaris* en la región Lagunera", concluyendo en septiembre de 1995.

De 1995 a 1996, trabajó en la Comisión Nacional de las Zonas Áridas en Huajuapam de León, Oax., y en el Programa Elemental de Asistencia Técnica 96/96 en Putla de Guerrero, Oaxaca.

En 1997 inició sus estudios de postgrado en Protección Vegetal.

INDICE

	Pág.
INDICE DE CUADROS.....	I
INDICE DE FIGURAS.....	II
RESUMEN.....	III
SUMMARY.....	IV
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	2
3. HIPÓTESIS	2
4. REVISIÓN DE LITERATURA	3
4.1. Principales virus de la papa	3
4.1.1. Virus del enrollamiento de la hoja de la papa (PLRV) <i>Luteovirus</i>	6
4.1.2. Virus Y de la papa (PVY) <i>Potyvirus</i>	6
4.1.3. Virus X de la papa (PVX) <i>Potexvirus</i>	7
4.1.4. Virus M de la papa (PVM) <i>Carlavirus</i>	8
4.1.5. Virus A de la papa (PVA) <i>Potyvirus</i>	9
4.1.6. Virus latente andino de la papa (APLV) <i>Tymovirus</i>	9
4.1.7. Virus moteado andino de la papa (APMV) <i>Comovirus</i>	10
4.1.8. Virus S de la papa (PVS) <i>Carlavirus</i>	10
4.1.9. Virus T de la papa (PVT) <i>Trichovirus</i>	11
4.1.10. Virus mosaico aucuba de la papa (PAMV) <i>Potexvirus</i>	11
4.1.11. Virus mop-top de la papa (PMTV) <i>Furovirus</i>	12
4.1.12. Virus de la mancha anillada negra de la papa (PBRV) <i>Nepovirus</i>	13
4.2. Otros virus	13
4.2.1. Viroides	14
4.2.2. Fitoplasmas	15
4.3. Métodos de diagnóstico	17
4.3.1. Plantas indicadoras	18
4.3.2. Microscopía electrónica	18
4.3.2.1. Microscopía electrónica de inmunoabsorción (ISEM)	19
4.3.3. Hibridación de ácidos nucleicos fijados (NASH)	19
4.3.4. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	20
4.4. Métodos serológicos para la detección de virus	21
4.4.1. Microprecipitación	21
4.4.2. Flocculación de látex sensibilizado	21
4.4.3. Prueba de doble difusión	22
4.4.4. Ensayo de inmunoabsorción con conjugados enzimáticos (ELISA)).....	22
4.4.4.1. ELISA de doble anticuerpo (DAS-ELISA).....	23
4.4.4.2. ELISA en membranas de nitrocelulosa (NCM-ELISA)	24

4.5. Norma fitosanitaria.....	26
4.5.1. Aplicación de la Norma Oficial.....	27
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
5.1. Descripción del área de estudio.....	28
5.2. Prácticas de cultivo	28
5.3. Muestreo.....	30
5.4. Detección de virus	31
5.4.1. ELISA	31
5.4.2. Amortiguadores	32
5.5. Antisueros utilizados	34
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
6.1. Virus detectados	35
6.2. Incidencia de virosis	41
7. CONCLUSIONES	44
8. LITERATURA CITADA	45
APÉNDICES	

INDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Clasificación de los virus por su asociación con la papa (Salazar, 1995).....	4
Cuadro 2. Incidencia oficial de virus de papa en Norteamérica (Anónimo, 1996)..	5
Cuadro 3. Características comparativas de enfermedades causadas por fitoplasmas en la papa (Salazar, 1995).....	16
Cuadro 4. Virus cuarentenados (NOM-012-FITO-1996)	26
Cuadro 5. Número de muestras colectadas para la detección de virus y su procedencia.....	31
Cuadro 6. Muestras positivas para virus de diverso año de evaluación en el campo para resistencia al tizón tardío en el Valle de Toluca en 1998.....	36
Cuadro 6A. Clones evaluados por primera vez de un total de 312 muestreados..	36
Cuadro 6B. Clones de segundo año de un total de 31 muestreados.....	38
Cuadro 6C. Clones de tercer año de un total de cinco muestreados.....	38
Cuadro 6D. Clones de cuarto año de un total de cuatro muestreados.....	38

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Diagramas comparativos de los diferentes pasos en tres tipos de ELISA-DAS ("sandwich de doble anticuerpo"). La técnica directa se realiza en placas de microtitulación mientras que NCM se realiza usando como soporte membranas de nitrocelulosa (Sánchez-Vizcaíno y Cambra, 1981).....	25
Figura 2. Incidencia de virosis en clones de papa sembrados en el Valle de Toluca, Edo. de México en 1998.....	43

VIROSIS EN CLONES INTERNACIONALES DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.) EN EL VALLE DE TOLUCA, ESTADO DE MEXICO

RESUMEN

Considerando que en años recientes se han introducido miles de clones de papa (*Solanum tuberosum* L.) del extranjero para evaluar su resistencia de campo al tizón tardío de la papa (*Phytophthora infestans* Mont de Bary) en el Valle de Toluca, México, está latente el riesgo de importar también a agentes fitopatógenos, por lo que era necesario un sondeo de sanidad de dichos materiales respecto a virus. En los lotes de evaluación del Programa Internacional Cooperativo del Tizón Tardío de la Papa (PICTIPAPA) en Metepec, México, se tomaron folíolos de 352 clones que han permanecido en la zona de uno a cuatro años, a los 75 días de la siembra en el ciclo de cultivo del verano de 1998. De igual manera, después de la cosecha también se tomaron tubérculos de 231 clones seleccionados del mismo grupo, para correrles pruebas de serología enzimática (ELISA) contra ocho virus, tanto a las muestras de follaje como a las de tubérculo. Del total de muestras un 17.01% fueron positivas para el virus X (PVX); 1.13% para el virus Y (PVY); 3.11% para el S (PVS); 1.41 para enrollamiento de la hoja (PLRV); y 1.13% para el mosaico aucuba (PAMV). No se detectaron los virus M (PVM), A (PVA) y latente andino (APLV). En general, hubo una relación directa de incidencia viral con número de ciclos agrícolas de los materiales en el Valle (20% en los de primer año; 35% en los de segundo; 60% en los de tercero y 25% en los de cuarto año, aunque estos tuvieron cuidados especiales) deduciéndose que la presencia de virus fue por infecciones primarias en el campo.

Palabras clave: *Solanum tuberosum*, *Phytophthora infestans*, virus.

VIRUSES IN INTERNATIONAL POTATO (*Solanum tuberosum* L.) CLONES IN THE TOLUCA VALLEY, MEXICO.

SUMMARY

In recent years, thousands of potato clones (*Solanum tuberosum* L.) have been introduced to the Toluca Valley from foreign countries for evaluation of field resistance to potato late blight (*Phytophthora infestans*) for the potential risk of importing plant pathogenic agents is always present. So, a screening for virus diseases was necessary. In the International Cooperative Program for Potato Late Blight evaluation plots in Metepec, México, leaves from 352 clones that have been in the Valley for one to four years were sampled at 75 days after planting in the 1998 growing cycle. After harvest tubers from 231 selected clones from the same group were also taken to run ELISA tests to both, leaves and tubers, for eight viruses. Seventeen percent of all the samples were positive for virus X (PVX); 1.13% for virus Y (PVY); 3.11% for virus S (PVS); 1.41% for leaf roll (PLRV); and 1.13% for aucuba mosaic (PAMV). Virus M (PVM), virus A (PVA), and andean latent (APLV) were not detected. Generally speaking, a direct relationship was found between viral incidence with growing cycles of the materials in the Valley (20% from first year; 35% in those of second; 60% in third; and 25% in fourth year, although these last ones received special protection). This observation leads to the deduction that the viral diseases detected was due to primary infections in the field.

Key words: *Solanum tuberosum*, *Phytophthora infestans*, virus.

1. INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es atacada severamente por una enfermedad causada por el hongo *Phytophthora infestans* Mont. De Bary, que destruye sus hojas y tallos. Este daño se manifiesta relativamente tarde en el ciclo de la planta, por lo que recibe el nombre de tizón tardío. Esta enfermedad ha sido el principal azote de los productores de la papa por un siglo y medio. Desde la hambruna irlandesa en la década de 1840, los agricultores han gastado miles de millones de dólares tratando de controlar al hongo responsable de lo que en Irlanda se ha llamado Gran Hambruna. Aún así, el tizón se mantiene como la enfermedad mas devastadora de este cultivo alimenticio. En México, el hongo se mantiene en equilibrio en la naturaleza en los parientes silvestres de la papa y el tomate en el Valle de Toluca, edo. de México (Anónimo, 1995). Niederhauser (1992) señala al Valle de Toluca como el centro de origen del tizón tardío. Allí se identificaron dos tipos de compatibilidad llamados A1 y A2, que aunado al clima ideal para su desarrollo, hace a la región el centro mundial de su diversificación genética y de mayor agresividad. Esto llevó a que el Gobierno Mexicano emprendiera un proyecto cooperativo internacional en agosto de 1990 con colaboración de científicos de Polonia, Holanda, Canadá, Estados Unidos, México y el Centro Internacional de la Papa, denominado Programa Internacional Cooperativo del Tizón Tardío (PICTIPAPA, A.C.), el cual inició sus actividades hasta el año de 1994. Desde su inicio y hasta el verano de 1998 se han introducido 7,199 clones, principalmente de Polonia, Italia, Estados Unidos, Holanda e Irlanda (H. Lozoya, comunicación personal), para evaluar en campo su resistencia genética al hongo, y aunque todos han cumplido con el requisito fitosanitario de estar libres de patógenos, el certificado y cotejo no son garantía de que así van a continuar.

Por lo antes expuesto, en el presente estudio se diagnosticaron los principales virus que infectan a los clones y cultivares de papa introducidos y la incidencia en el área agrícola del Campo Agrícola Experimental SEDAGRO-(ICAMEX)-INIFAP-PICTIPAPA, en el municipio de Metepec, estado de México.

2. OBJETIVOS

1. Detectar los virus presentes en los clones y cultivares internacionales de papa que son evaluados para la resistencia al tizón tardío.
2. Determinar el grado de incidencia que presentan los virus detectados.
3. Identificar interacciones de infección viral con rendimiento y número de ciclos agrícolas de exposición de los clones en el campo.

3. HIPÓTESIS

1. Las introducciones del material vegetal vienen libres de virus, pero las plantas se infectan en el campo durante los ciclos de evaluación.
2. Existen mezclas de virus en los clones y cultivares de papa, con infección primaria en el follaje.
3. La incidencia de los virus presentes está determinada por las prácticas culturales, el medio ambiente y la cantidad de ciclos de evaluación de campo.
4. La infección viral afecta adversamente el rendimiento de tubérculo.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Principales virus de la papa

PVA

Numerosos virus, viroides y fitoplasmas han sido encontrados en la papa. Se mencionan más de 25 virus diferentes o enfermedades afines. La importancia relativa de cada virus está determinada por su prevalencia y el efecto económico que produce. El virus del enrollamiento de la hoja de la papa (PLRV) y el virus Y (PVY) son los más importantes, seguidos por el virus X de la papa (PVX), el virus M (PVM), el virus A (PVA) y algunos otros de distribución más localizada. Por su asociación con el hospedante, los virus y agentes relacionados se pueden clasificar en dos grupos bien definidos (Salazar, 1995, Cuadro 1). Los virus que dependen de la papa para su supervivencia y diseminación generalmente tienen un rango de hospedantes restringido o moderado. La mayoría de estos virus presentan un gran número de variantes en papa u otros huéspedes de la familia Solanaceae. Esta variabilidad se encuentra comúnmente en la región andina, el centro de origen de la papa. Aquellos virus que no dependen de la papa para su supervivencia y diseminación, muestran un rango de hospedantes amplio, sólo algunas de sus variantes han sido halladas en papa y usualmente causan enfermedades económicamente importantes en otros cultivos.

Existen más virus de la papa en Sudamérica que en el resto del mundo (Salazar, 1995). La Organización Norteamericana de Protección a las Plantas (NAPPO), que incluye a los Departamentos de Sanidad Vegetal de Estados Unidos, Canadá y México (Anónimo, 1996) publicó los virus asociados a la papa y su distribución en la región (Cuadro 2).

A pesar de que México tiene climas benignos para el desarrollo de las virosis, solo se reconoce oficialmente la existencia de cinco virus, tal vez porque el país no es "papero" y no hay el movimiento tan intenso de variedades comerciales como en otros lugares. Aunque en el Cuadro 2 se clasifica al virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV) como no reportado en papa, se detectó en tomate en Sinaloa en el año de 1986 causando daños de importancia (Verdugo, 1989). Ramírez *et al.* (1990) lo mencionó en Michoacán también en jitomate y Hernández (1994) lo detectó en localidades de Yucatán en chiles.

Cuadro 1. Clasificación de los virus por su asociación con la papa (Salazar, 1995).

Virus y viroides que dependen de la papa para su supervivencia y diseminación			Virus que no dependen de la papa para su supervivencia y diseminación		No determinada ^a
Virus X de la papa (PVX)	Virus mop-top de la papa (PMTV)	Virus del moteado andino de la papa (APMV)	Virus del mosaico de la alfalfa (AIMV)	Virus cascabeleo del tabaco (TRV)	Virus de la vena amarilla de la papa (PYVV)
Virus Y de la papa (PVY)	Virus del enrollamiento de la hoja de la papa (PLRV)	Virus del achaparramiento de la papa (PSV)	Virus de la punta crespa de la betarraga (BCTV)	Virus mosaico del tabaco (TMV)	Virus mosaico deformante de la papa (PDMV)
Virus S de la papa (PVS)	Virus T de la papa (PVT)	Virus de la mancha anillada de la papa (PBRV)	Virus del mosaico del pepinillo (CMV)	Virus de la marchitez manchada del tomate (ToSWV)	
Virus M de la papa (PVM)	Virus del amarillamiento de la papa (PYV)	Viroide del tubérculo ahusado de la papa (PSTVd)	Virus del enanismo amarillo de la papa (PYDV)	Virus de la mancha anillada del tomate (ToBRV)	
Virus del mosaico aucuba de la papa (PAMV)	Virus latente andino de la papa (APLV)	Virus mosaico de la papa silvestre (WPMV)	Virus de la mancha anillada del tabaco (TRSV)	Virus del estriado del tabaco (TSV)	
			Virus de la hoja apical crespa de <i>Solanum</i> (SALCV)		

a. La naturaleza viral de estas dos enfermedades no ha sido determinada conclusivamente.

Cuadro 2. Incidencia oficial de virus de papa en Norteamérica (Anónimo, 1996).

Nombre común en Español	Nombre común en Inglés o Científico	CAN	EUA	MEX
VIRUS				
Virus latente andino de la papa	Andean Potato Latent Virus	-	-	-
Virus moteado andino de la papa	Andean Potato Mottle Virus	-	-	-
	Arabis Mosaic Virus	-	-	-
	Arracacha Virus	-	-	-
Virus latente del clavel	Carnation Latent Virus	-	-	-
Virus deformante de la papa	Potato Mosaic Deformante Virus	-	-	-
	Potato Mop Top Virus	-	R	-
Virus del achaparramiento de la papa	Potato Stunt Virus	-	-	-
Virus N de la papa	Potato Virus N	-	-	-
Virus T de la papa	Potato Virus T	-	-	-
Virus U de la papa	Potato Virus U	-	-	-
Virus V de la papa	Potato Virus V	-	-	-
Virus Y ^c de la papa	Potato Virus Y ^c	-	-	-
Virus de la vena amarilla	Potato Yellow Vein Virus	-	-	-
Virus anular del tomate	Tomato Black Ring Virus	-	-	-
Virus hoja enrollada del betabel	Beet Curly Top Virus	+	+	-
Virus del amarillamiento del betabel	Beet Western Yellow Virus	S	+	-
Mosaico aucuba de la papa	Potato Aucuba Mosaic Virus	*	+	-
Virus del mechón de la papa	Potato Mop Top Virus	-	+	-
Virus M de la papa	Potato Virus M	+	+	-
Virus N de la papa	Potato Virus N	+	+	-
Virus Y ⁿ de la papa (necrótico)	Potato Virus Y ⁿ	+	+	-
Virus enanismo amarillo de la papa	Potato Yellow Dwarf Virus	*	+	-
Virus cascabeleo del tabaco	Tobacco Rattle Virus	S	+	-
Virus estriado del tabaco	Tobacco Streak Virus	N	+	-
Virus anular del tomate	Tomato Black Ring Virus	N	-	-
	Tomato Bunchy Top Virus	N	+	-
Virus del mosaico de la alfalfa	Alfalfa Mosaic Virus	+	+	N
Virus del enrollamiento de la hoja	Potato Leaf Roll Virus	+	+	+
Virus A de la papa	Potato Virus A	+	+	+
Virus X de la papa	Potato Virus X	+	+	+
Virus Y ^c de la papa	Potato Virus Y ^c	+	+	+
Virus de la necrosis del tabaco	Tobacco Necrosis Virus	-	+	N
Virus de la mancha anular del tabaco	Tobacco Ringspot Virus	N	+	N
Virus de la marchitez y moteado del tomate	Tomato Spotted Wilt Virus	S	+	N
Virus S de la papa	Potato Virus S	-	-	+

- No se tienen reportes de su presencia en el país

+ Presente en el país asociado con papa

S Esporádico o raro

N Presente en el país pero no asociado con papa

R Reportado por literatura pero no confirmado

* No encontrado en los últimos 30 años

4.1.1. Virus del enrollamiento de la hoja de la papa (PLRV) *Luteovirus*

Reportado por primera vez en *Solanum tuberosum* ssp. *Tuberosum* en Holanda (Smith, 1972). Este virus es el que causa los daños más severos en el cultivo de papa, reduciendo el rendimiento entre 50 y 80% en cultivares susceptibles (Banttari *et al.*, 1993). Probablemente se encuentra distribuido en todas las áreas donde se cultiva papa (Agrios, 1996).

En plantas con infección primaria, los síntomas más típicos son clorosis y enrollamiento de las hojas jóvenes. Algunos cultivares pueden desarrollar pigmentación rojiza o púrpura, especialmente en los márgenes de los folíolos. El enrollamiento de las hojas puede a veces aparecer sólo en la base de los folíolos o diseminarse a las hojas más bajas. Las plantas con infección secundaria pueden desarrollar clorosis en las hojas apicales, y empezar el enrollamiento en las hojas basales. Estas plantas usualmente muestran una severa reducción del crecimiento (Salazar, 1995). Los síntomas en tubérculos son raros, pero algunos cultivares norteamericanos como Russet Burbank, Green Mountain y Norgold Russet, pueden desarrollar necrosis en red internamente (Douglas y Pavek, 1972).

Este virus es transmitido en forma persistente por insectos de la familia Aphididae, siendo *Myzus persicae* el vector más eficiente e importante. No es transmitido por inoculación mecánica, semilla ó polen, pero sí transmitido por injerto (Davidson, 1973).

Sus partículas son isométricas de 24 nm de diámetro y perfil angular (Agrios, 1996). Cada partícula contiene 30% de ácidos nucleicos 70% de proteína y 0% de lípidos. El genoma consiste de ARN de cadena sencilla, lineal, unipartita (Mayo y Martelli, 1993).

4.1.2. Virus Y de la papa (PVY) *Potyvirus*

Fue reportado por primera vez en *Solanum tuberosum* de Inglaterra, por Smith (1931). Los diferentes aislamientos han sido agrupados en tres amplios grupos de variantes: PVY^o, PVY^c y PVY^N.

PVY^o y PVY^c generalmente causan necrosis en el follaje y moteado como síntoma primario, mientras que PVY^N causa sólo mosaico o moteado. Los síntomas de mosaico pueden enmascarse con temperaturas fuera del rango de 10 a 25 °C. No se observan síntomas de PVY en los tubérculos; sin embargo, una variante del grupo PVY^N (llamada PVY^{NN}) que causa anillos necróticos en los tubérculos ha aparecido en los últimos años en Europa (Kus, 1990). El mosaico rugoso fue un síntoma atribuido a la infección simultánea de papa con PVX y PVY, pero algunas variantes de PVY pueden causar por sí solas éste tipo de síntomas. Las pérdidas que ocasiona este virus van de un 10% al 80% (Banttari *et al.*, 1993).

PVY^o se encuentra distribuido en gran parte del mundo; PVY^N está disperso en Europa, incluyendo a Rusia, parte de Africa, E.U.A., Canadá y Sur de América; PVY^c posiblemente está presente en Australia, La India, algunas partes de Inglaterra y el Continente Europeo (Brunt *et al.*, 1996).

Se transmite por vectores de la familia Aphididae, siendo *Myzus persicae* el más eficiente, también por *Aphis fabae*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus* (Nectarosiphon) *certus*, *Myzus* (Phorodon) *humali* y *Rhopalosiphum insertum*, en forma no persistente. Se transmite por inoculación mecánica y por injerto (Kennedy *et al.*, 1962).

Este virus presenta partículas filamentosas y usualmente flexuosas de 750 x 11 nm. La partícula viral contiene 5.4–6.4% de ácido nucleico, 93.6–94.6% de proteína y 0% de lípidos. El genoma consiste de ARN de cadena sencilla, lineal, unipartita (Brunt *et al.*, 1996).

4.1.3. Virus X de la papa (PVX) *Potexvirus*

Reportado en *Solanum tuberosum* de Inglaterra por Smith (1931). Este virus se encuentra ampliamente distribuido en todo el mundo, aunque no reduce el rendimiento demasiado, a menos que se presente junto con otros virus (Agrios, 1996), afecta en un 15% o más (Banttari *et al.*, 1993).

Los síntomas causados por PVX son variables. Pueden ser mosaico suave o infección latente, mosaico severo, encrespamiento y aún rugosidad en las hojas (Agrios, 1996). Se transmite por contacto entre plantas y por inoculación mecánica. La

transmisión por zoosporas de *Synchytrium endobioticum* ha sido mencionada, pero su importancia en la epidemiología del virus no ha sido determinada. En el Centro Internacional de la Papa (CIP), sin embargo, frecuentemente se ha obtenido infección de *Nicotiana debneyi* y *N. benthamiana* transplantadas a suelos de los Andes infestados con *S. endobioticum* (Salazar, 1995). No se transmite por semilla, tampoco por polen.

La partícula viral es alargada de 515 x 13 nm (Agrios, 1996), el genoma consiste de ARN, cadena sencilla, contiene 6% ácido nucleico, 94% de proteína y 0% de lípidos (Brunt *et al.*, 1996).

4.1.4. Virus M de la papa (PVM) *Carlavirus*

Fue reportado en *Solanum tuberosum* de los Estados Unidos de América. Es común en Europa del Este y Rusia, pero no en otras partes del mundo (Bawden *et al.*, 1950; Bagnall *et al.*, 1959).

Los síntomas en el follaje varían desde latencia virtual hasta mosaico severo y escrespamiento de las hojas. Deformación de folíolos, enrollamiento del ápice de la planta y necrosis en los pecíolos y tallos, pueden ser observados en algunos cultivares. Mosaico enrollado de la papa y el "paraencrespamiento" ("paracrinkle") de la papa son nombres que se le ha dado a la enfermedad causada por este virus (Salazar, 1995).

La mayoría de los aislamientos son transmitidos por áfidos en forma no persistente, *Myzus persicae* es el vector más eficiente, pero también es transmitido por *Aphis frangulae*, *A. nasturtii* y *Macrosiphum euphorbiae*, también se transmiten por contacto entre plantas, por inoculación mecánica y por injerto. No se transmiten por semilla y tampoco por polen (Brunt *et al.*, 1996).

La partícula viral es filamentosa de 515 x 13 nm. El genoma consiste de ARN y cada partícula viral tiene 5.5% de ácido nucleico (Mohamed *et al.*, 1980).

4.1.5. Virus A de la papa (PVA) *Potyvirus*

Reportado por vez primera en *Solanum tuberosum* por Murphy y Mackay (1932). Se encuentra ampliamente diseminado y muestra relaciones serológicas débiles con PVY. Comúnmente PVA induce mosaicos suaves en la papa, pero en algunos cultivares puede observarse cierto grado de encrespamiento y rugosidad de las hojas. Es común en Europa y Norteamérica (Hooker, 1981).

Este virus es transmitido por vectores de la familia Aphididae; *Aphis frangulae*, *A. nasturtii*, *Myzus persicae*, en forma no persistente y por inoculación mecánica. No se transmite por semilla.

La partícula viral es filamentosa usualmente flexuosa de 730 x 11 nm. El genoma consiste de ARN de cadena sencilla.

Los hospederos susceptibles para su diagnóstico son: *Nicotiana tabacum* cv. Samsun, *N. tabacum* cv. White Burley, *Nicandra physaloides*, *Lycopersicon pimpinellifolium*, *Solanum demissum* (Brunt et al., 1996).

4.1.6. Virus latente andino de la papa (APLV) *Tymovirus*

Es común en la región andina, se identificó en *Solanum tuberosum*. Se distribuye en el Centro y Sur de América; Bolivia, Chile, Colombia, Ecuador y Perú (Gibbs et al., 1966).

El virus es transmitido por inoculación mecánica, injerto, contacto entre plantas, semilla botánica y por un vector; (*Epitrix* sp., Orden: Coleoptera) en forma no persistente (Jones y Fribourg, 1977).

Los síntomas causados en la papa, dependen del cultivar y de las condiciones ambientales. Los síntomas y la multiplicación del virus son favorecidos por condiciones frías. Los síntomas de infección primaria usualmente son latentes, pero ocasionalmente pueden producir mosaico suave o clorosis de las venas menores. Las plantas con infección secundaria generalmente muestran mosaicos suaves y a veces rugosidad de las hojas.

La partícula viral es isométrica de 30 nm de diámetro. El genoma contiene ARN de cadena sencilla, cada partícula viral contiene 36% de ácido nucleico y 64% de proteína (Fribourg *et al.*, 1977).

4.1.7. Virus moteado andino de la papa (APMV) *Comovirus*

El primer reporte fué realizado en materiales de *Solanum tuberosum* proveniente de La Molina, Perú por Fribourg *et al.* (1975).

Se encuentra disperso en el Sur y Centro de América; Brazil, Chile, Ecuador y Perú (Brunt *et al.*, 1996).

Los síntomas causados son moteados de intensidad variable, rugosidad y deformaciones de hojas en infección primaria o secundaria. Detención del crecimiento de las plantas y emergencia retardada de los tubérculos infectados pueden presentarse en cultivares sensibles (Salazar, 1995).

El virus es transmitido por contacto, inoculación mecánica, injerto y no se transmite por semilla (Brunt *et al.*, 1996). Salazar, 1995, mencionó que el virus es transmitido por un insecto masticador (*Diabrotica* sp.) en experimentos de invernadero.

El genoma consiste de ARN de cadena sencilla y la partícula viral es isométrica de 28 nm de diámetro (Salazar y Harrison, 1978a).

4.1.8. Virus S de la papa (PVS) *Carlavirus*

Se identificó a este virus en *Solanum tuberosum* en Holanda y se encuentra ampliamente diseminado (Smith, 1972).

Los síntomas generalmente son indistinguibles: depresión ligera de las venas, bronceado de las hojas y un tipo de crecimiento abierto pueden observarse cuando las variantes que atacan a las plantas son más severas. Manchado necrótico o estriado ha sido observado en algunos cultivares. Dos grupos de variantes principales pueden ser reconocidos en la papa. La diferencia principal entre los dos es la infección sistémica causada en *Chenopodium amaranticolor* y *C. quinoa* por las variantes andinas (Hinostroza, 1973). Algunas variantes del virus son transmitidas por *Myzus persicae*

(Familia Aphididae) en forma no persistente (Salazar, 1995), por inoculación mecánica y no se transmiten por semilla (Wetter, 1971). La partícula es filamentosa de 650 x 12 nm (Brunt *et al.*, 1996).

4.1.9. Virus T de la papa (PVT) *Trichovirus*

Se identificó en *Solanum tuberosum* de Perú, por Salazar y Harrison en 1977.

Se ha mencionado a este virus sólo en Perú y Bolivia. Por ser transmitido por la semilla botánica en alta proporción, podría tener una distribución más amplia. Es fácilmente transmitido a la papa por inoculación de savia y no es transmisible por contacto entre plantas (Jones, 1982).

Causa síntomas muy ligeros (moteado) o es latente en papa. Sólo necrosis y manchas cloróticas fueron observadas en plantas del cv. King Edward que fueron inoculadas mecánicamente (Salazar y Harrison, 1978b). Sin embargo, Abad (1979) detectó el virus en plantas que mostraban síntomas de amarillamiento en porciones de las venas.

El virus es filamentoso de 637 x 12 nm. El genoma consiste de ARN de cadena sencilla. Cada partícula viral contiene 95% de ácido nucleico y 5% de proteína (Salazar y Harrison, 1978b).

4.1.10. Virus del mosaico aucuba de la papa (PAMV) *Potexvirus*

Este virus fue reportado en *Solanum tuberosum* de Inglaterra y Holanda. Se distribuye probablemente en gran parte del mundo.

Se transmite por *Myzus persicae* (Familia: Aphididae) de manera no persistente y por inoculación mecánica (Kassanis, 1961).

El virus induce manchas amarillas brillantes en el follaje, deformación o detención del crecimiento sin manchas amarillas, mosaico y necrosis apical, así como también necrosis y deformación de los tubérculos (Munro, 1960; Hooker, 1981).

El genoma consiste de ARN cadena sencilla. La partícula viral es filamentosa de 580 x 11nm. Contiene 5% de ácido nucleico, 95% de proteína y 0% de lípidos (Brunt *et al.*, 1996).

4.1.11. Virus mop-top de la papa (PMTV) *Furovirus*

Se encuentra comúnmente en la región andina, pero también en Europa (Salazar y Jones, 1975).

Los síntomas causados en el follaje pueden ser de tres tipos según el cultivar y las condiciones ambientales (Harrison y Jones, 1970).

1. Marcas amarillas brillantes consideradas del tipo cálico. Pueden ser manchas, anillos o figuras en forma de V. Un bandeado amarillo ancho de las venas se ha observado en algunos cultivares nativos de Perú (e.g. Huayro).
2. Figuras menos brillantes en forma de V ó moteado ligero, usualmente en las hojas superiores.
3. Detención del crecimiento de los tallos y acortamiento de los entrenudos ("mop-top"), de donde se deriva al nombre del virus. Tubérculos con infección primaria a veces no muestran síntomas o pueden reaccionar con anillos o arcos necróticos en la superficie. Tubérculos con infección secundaria pueden mostrar deformaciones, rajaduras superficiales o arcos necróticos alrededor de la inserción del estolón.

Es transmitido por las zoosporas del hongo *Spongospora subterranea* y sobrevive en las esporas de descanso del hongo por varios años, se transmite por inoculación mecánica e injerto (Jones y Harrison, 1969).

Las partículas virales son en forma de bastón, con un claro núcleo central, y algunas variantes muestran desarreglo de la porción terminal de la hélice proteica. Estas partículas tienen una longitud variable, pero se agrupan entre 250-300 x 18-20 nm y 100-250 x 18-20 nm (Salazar y Jones, 1975).

4.1.12. Virus de la mancha anillada negra de la papa (PBRV) *Nepovirus*

El virus es reportado en *Solanum tuberosum* spp. *tuberosum* x *Solanum tuberosum* spp. *andigena* de Huasa Huasi en Perú, por Salazar y Harrison (1977).

Es conocido como el virus de la mancha anillada negra de la papa; el cual causa anillos necróticos como síntomas primarios o secundarios. Ha sido detectado en los Andes de Perú (Salazar, 1995).

Es transmitido por inoculación mecánica, no se transmite por injerto, por contacto entre plantas y tampoco por semilla (Brunt *et al.*, 1996).

La partícula viral es isométrica de 25 nm de diámetro. El genoma consiste de ARN de cadena sencilla (Salazar y Harrison, 1978a).

4.2. Otros virus

Recientemente Daniels *et al.* (1995) ha mencionado un Carlavirus en papa en Brasil, aparentemente distinto a PVS y PVM y lo denominó PVP.

Un virus que se parece a AIMV en rango de hospedantes, tamaño y forma de partículas ha sido mencionado recientemente y llamado virus del amarillamiento de la papa (PYV). PYV no está relacionado serológicamente con AIMV. A diferencia de AIMV, PYV causa necrosis de la semilla botánica de papa y de *Physalis floridana* y también es transmitido en bajo porcentaje por semillas sin necrosis. PYV ha sido encontrado altamente diseminado en Perú y ha sido detectado serológicamente en Bolivia y Chile (Fuentes y Jayasinghe, 1993).

El virus V de la papa (PVV) (Fribourg y Nakashima, 1984) es un nombre dado a un grupo de potyviruses hallados en la papa, los cuales no están serológicamente relacionados con la mayoría de las variantes de PVY, pero están relacionados cercanamente con PVY^c. Fernández-Northcote (1986) hizo una comparación biológica y serológica de variantes de PVY, PVV y el virus peruano del tomate (PTV) y halló que PVV inducía síntomas en *Nicotiana debney* y *Solanum demissum* "A" que se parecían a los producidos por PTV, pero que eran diferentes de los de PVY. En ELISA y con látex,

PVV no reaccionó con PVY, pero reaccionó débilmente con PTV. Por eso se considera una variante de PTV de papa.

Hooker y Salazar (1983) descubrieron un virus que pertenece al grupo de los Geminivirus, llamado virus de la hoja apical crespada de *Solanum* (SALCV). Tiene partículas característicamente trisegmentadas y el vector es desconocido. El virus ha sido hallado sólo en la selva del Perú. En San Ramón, Junín, 12% de las plantas indexadas se hallaron infectadas con SALCV. Sus síntomas asemejan aquellos de severa infección primaria con PLRV o aquellos de amarillamientos del áster o enfermedades causadas por fitoplasmas.

Un posible miembro de los Tymovirus, codificado SB-23, ha sido aislado en el CIP recientemente de algunos cultivares de papa de México. Los síntomas son mosaicos suaves que son más evidentes unos cuantos días después de la infección, pero conforme las plantas crecen estos desaparecen. SB-23 parece ser una variante del virus del mosaico de "Sowbane" desde que reacciona serológicamente con antisuero para ese virus y algunos cultivares de papa, entre los cuales el cultivar mexicano Puebla es más susceptible (Salazar, 1995).

Un virus llamado 14R, con propiedades de los tobamovirus, es aislado del cv. nativo Alelí en los Andes peruanos, pero hasta el momento no se ha podido infectar artificialmente otro cultivar de papa con el virus. El virus fue aislado de plantas que mostraban un mosaico brillante, pero estas plantas estaban también infectadas con PVX. El 14R no está serológicamente relacionado con dos variantes de TMV ni con TRV o con PMTV (Salazar, 1977).

4.2.1. Viroides

Los viroides son elementos patogénicos de ácido nucleico de peso molecular relativamente bajo (1.1 a 1.3×10^5 daltons). Consisten de una molécula circular de ARN unida covalentemente en sus extremos, carece de cápside proteica y es autorreplicable (Diener, 1979). Desde 1971 a 1996 se han descubierto 13 viroides, de los cuales la mayoría son patógenos importantes de plantas vegetales. En la papa se mencionan dos: el viroide tubérculo fusiforme de la papa (PSTVd) y el viroide de la

papita mexicana (ViPM) (Galindo, 1987; Matthews, 1991; Martínez, 1996). La enfermedad causada por PSTVd ha sido conocida también como tubérculo ahusado, enanismo encrespado no moteado y papa gótica (Salazar, 1989). Este viroide es una molécula de ARN circular de 359 nucleótidos que tienen alto grado de complementariedad intramolecular (Gross *et al.*, 1978).

Recientemente, PSTVd ha sido hallado en aguacates (*Persea americana* L.) en Perú (Querci *et al.*, 1995).

Los síntomas en el follaje de la papa son difíciles de reconocer. Las plantas que crecen bajo condiciones óptimas para multiplicación del viroide o que han sido infectadas por varias generaciones son muy pequeñas, con un crecimiento erecto. La reducción del tamaño de las hojas y la coloración grisácea del follaje han sido observadas en varios cultivares. Los tubérculos pueden ser ahusados y pequeños y pueden mostrar rajaduras, una disminución en la profundidad de los "ojos" y un incremento en el número de "ojos" por tubérculo también son muy característicos.

PSTVd es transmitido por contacto, inoculación de savia e implementos y maquinaria agrícola contaminados. La transmisión a través de semilla de papa y tomate es bien conocida. Hunter *et al.* (1969) mencionaron un 100% de transmisión por semilla en cvs. Katahdin y Sebago, cuando ambos padres estaban infectados. En experimentos realizados en el CIP, Salazar *et al.* (1995) determinaron casi 100% de transmisión de PSTVd por el áfido *Myzus persicae* cuando el viroide fue adquirido de plantas de papa que también estaban infectadas con PLRV.

El viroide es considerado de alta importancia y es un problema para programas de mejoramiento y propagación de núcleos de semilla de papa. Bajo condiciones de campo, PSTVd puede reducir los rendimientos en forma dramática. En China una reducción en rendimiento de hasta 80% en algunos cultivares fue atribuida a PSTVd (Salazar, 1995).

4.2.2. Fitoplasmas

Los fitoplasmas son organismos patógenos del tejido del floema, son pleomórficos, sin pared celular, y están rodeados de una membrana trilaminar. Su diámetro varía

mucho; cuerpos que miden 50 a más de 1,000 nm se han encontrado en la mayoría de las enfermedades de este tipo (Hooker, 1981). Son transmitidos por insectos y se reproducen por fisión binaria (Doi *et al.*, 1967). En la papa se han mencionado varias enfermedades producidas por fitoplasmas (Cuadro 3).

Cuadro 3. Características comparativas de enfermedades causadas por fitoplasmas en la papa (Salazar, 1995).

Enfermedad	Pérdida de Rendimiento (%)	Vector principal	Transmisión por Tubérculo (%)
PTR	50 – 75	<i>Alebroides dravidanus</i> <i>Orosius albicinctus</i> <i>Seriana equata</i>	20 – 70
PTW	< 10	<i>Macrosteles fascifrons</i> <i>Elymana virescence</i>	3 – 8
MF	50 – 90	<i>O. albicinctus</i> <i>S. equata</i>	0 – 65
WB	15 – 50	<i>A. dravidanus</i> <i>O. albicinctus</i> <i>Ophiola flavopicta</i>	50 – 100
PP	hasta 65	— ^a	50 – 100
Stolbur	10 – 80	<i>Hyalesthes obsoletus</i> <i>Aphrodes bicinctus</i> <i>Euscelis plebejus</i>	—

^a — = datos no disponibles.

^b PTR: enrollamiento púrpura del ápice; PTW: marchitez de la punta morada; WB: escoba de brujas; PP: filodia de la papa; MF: flavescencia marginal.

- Enrollamiento púrpura del ápice (PTR); causa enrollamiento de la parte basal de los folíolos de las hojas jóvenes del brote. Los tubérculos de plantas afectadas son pequeños y producen brotes ahilados (Khurana *et al.*, 1988)
- Marchitez de la punta morada (PTW); origina brotes erectos y las hojas se enrollan hacia arriba con el progreso de la enfermedad. Pigmentación púrpura se produce en la base de los folíolos y los tallos se marchitan debido a necrosis del floema interno de los tallos. Plantas jóvenes afectadas producen tubérculos aéreos y engrosamiento de los nudos del tallo. Los tubérculos pueden llegar a ser flácidos y producen brotes aislados cuando se rompe la dormancia (Valenta *et al.*, 1961).

- Escoba de brujas (WB); produce una detención severa del crecimiento de las plantas debido al acortamiento de entrenudos y también induce clorosis marginal de los folíolos. Las plantas no producen tubérculos o sólo algunos pequeños con brotes ahilados (Salazar, 1995).
- Filodia de la papa (PP); causa achatamiento de los tallos y el desarrollo de hojas cloróticas con folíolos pequeños. Flores con filodia pueden proliferar y producir brotes vegetativos. También se pueden producir tubérculos aéreos (Khurana *et al.*, 1988).
- "Stolbur"; plantas infectadas muestran clorosis y enrollamiento de los folíolos tipo cuchara. Las plantas generalmente se secan y marchitan. Los tubérculos son blandos y pueden desarrollar brotes delgados y ahilados (Valenta *et al.*, 1961).

4.3. Métodos de diagnóstico

El manejo en general de las enfermedades consiste principalmente en evitar su establecimiento, desarrollo y diseminación. La prevención incluye diversas medidas, en el caso de virus, la producción de semilla libre de virus es la más importante. Sin embargo, la sanidad de la semilla estará directamente relacionada con la detección y eliminación oportuna de las infecciones virales.

Los métodos de diagnóstico fueron reconocidos como el instrumento básico en el desarrollo de la virología como disciplina, porque la exactitud de los estudios dependía directamente de la sensibilidad de estas técnicas (Barnes, 1994).

Varios métodos han sido desarrollados a través de los años. Barker *et al.* (1993) mencionan que pueden ser divididos en general en dos grupos: a) los que dependen de la proteína del cápside y b) los que dependen del ácido nucleico viral.

4.3.1. Plantas indicadoras

La detección de virus por plantas indicadoras es una de las pruebas más comunes en el diagnóstico de los virus en la papa y otros cultivos. Los mejores ejemplos son la detección de PVX con *Gomphrena globosa* y PVY con el clon de papa A6. En este caso, las muestras infectadas se diluyen en una solución amortiguadora, y posteriormente son inoculadas mecánicamente en las hojas de la planta indicadora. La reacción de estas plantas según el virus presente induce lesiones locales o sistémicas, los resultados se obtienen entre cuatro y ocho días después de la inoculación.

Varios factores afectan la producción de lesiones locales. Puede existir diferencias en susceptibilidad entre plantas, debido a variaciones genéticas y a las condiciones con dosis altas de nitrógeno puede a veces producir más lesiones locales, aunque las plantas con una nutrición balanceada crecen mejor.

Para detectar virus transmitidos por inoculación de savia, prácticamente cualquier parte de la planta de papa puede ser usada como fuente de inóculo. Sin embargo, comúnmente se usan hojas o brotes de tubérculos (De Bokx, 1972).

4.3.2. Microscopía electrónica

La importancia de la microscopía electrónica en la detección de virus ha sido mencionada por muchos, Roberts (1986) indicó: "La microscopía electrónica tiene dos grandes ventajas, la rapidez con la cual se puede obtener los resultados y la evidencia visual convincente, si no inequívoca".

No existe una regla general para seleccionar el tejido de la planta para observación. Para los virus que se presentan en alta concentración y están distribuidos uniformemente en la planta, se utilizan las hojas. Para los virus que no se distribuyen uniformemente en la planta o cuya distribución es desconocida, se debe examinar muestras de diferentes partes y alturas en la planta.

Las soluciones contrastantes más empleadas son las de fosfotungstato de sodio (1-2%) a pH entre 3.5 y 7, molibdato de amonio a pH entre 3.5 y 8, acetato de uranilo a pH 3.7 y, ocasionalmente, formato de uranilo preparado como describieron Barnett y

Murant (1970). Usualmente se coloca una gota de la muestra en la rejilla, se quita el exceso ligeramente con un pedazo de papel filtro y luego se deposita una gota de la solución contrastante. Después de volver a quitar el exceso y dejar por un tiempo a temperatura ambiente para que se sequen, la muestra está lista para su observación al microscopio electrónico (ME) (Milne, 1988).

4.3.2.1. Microscopía electrónica de inmunoabsorción (ISEM)

La técnica de ISEM consiste en atrapar partículas virales en rejillas que han sido previamente cubiertas con anticuerpos específicos para un virus y su posterior observación al ME. Se recomienda emplear antisueros diluidos 1:1,000 porque concentraciones más altas de anticuerpos pueden inhibir la reacción (Roberts, 1986). El antisuero se incuba en la rejilla por una hora, aunque tiempos mas cortos han dado resultados satisfactorios (Milne y Lessemann, 1984).

ISEM es más sensible y produce campos más claros que la observación directa de extractos de plantas porque la capa de anticuerpos que recubre la rejilla impide la adherencia de componentes indeseables (Torrance y Jones, 1981).

4.3.3. Hibridación de ácidos nucleicos fijados (NASH)

Fue desarrollado por Owens y Diener (1981) para detectar PSTVd. También varios autores han informado sobre la aplicación de NASH para la detección de virus. (Maule *et al.*, 1983; Baulcombe *et al.*, 1984)

La técnica se lleva a cabo adhiriendo los ácidos nucleicos (por ejemplo, extractos de plantas que contienen virus o viroides) a un filtro de nitrocelulosa y luego incubando este filtro con una solución de la sonda. La sonda es un ADN o ARN complementario marcado, preparado de ácido nucleico viral o de viroides por síntesis directa o por métodos de ADN recombinante. Después de la hibridación con la sonda, los híbridos que se hayan formado entre el ácido nucleico absorbido en el filtro y la sonda son detectados por autorradiografía (con sondas marcadas con un marcador radioactivo) o con un sustrato enzimático (con sondas no radioactivas) (Miller y Martín, 1988).

NASH ha demostrado varias ventajas para la detección de PSTVd, aunque todavía es posible mejorar la técnica especialmente en cuanto al tipo de marcador para la sonda. Con el uso de sondas de ARN, los procedimientos de NASH pueden detectar hasta 0.33 pg de viroide (Salazar *et al.*, 1988 y Chet, 1994).

4.3.4. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Kary Mullis y colaboradores desarrollaron la PCR como un proceso que puede ser utilizado para generar gran cantidad de copias a partir de ADN genómico (Ausubel *et al.*, 1992).

Este método está basado en la síntesis específica de secuencias de ADN, gracias a la enzima polimerasa, las cuales están localizadas entre dos iniciadores de secuencia conocida y complementarios a una región del ácido nucleico de interés (Saiki *et al.*, 1985; Querci, 1993). Los iniciadores son sintetizados con una estructura determinada de tal manera que se orienten en el ADN a ser amplificado y que la síntesis por la polimerasa proceda a través de la región entre los iniciadores.

En la aplicación de este método el ADN se calienta alrededor de 95 °C para separar las hebras en presencia de los iniciadores. Cuando la temperatura se reduce a una temperatura apropiada (generalmente entre 36 y 60 °C), los iniciadores hibridizan con el ADN en la región de complementariedad. Luego, la polimerasa extiende los iniciadores para copiar el ADN y ciclos sucesivos que comprenden la desnaturalización del ADN molde, la hibridación de los iniciadores y su extensión por la polimerasa. Esto da lugar a la acumulación exponencial de una región específica cuyos terminales están definidos por los terminales 5' de los iniciadores (Querci, 1993).

El uso de una enzima termoestable extraída de la bacteria *Thermus aquaticus* (Taq) en lugar de una enzima termolábil (fragmento klenow de la polimerasa I de ADN) ha simplificado mucho el proceso (Saiki *et al.*, 1988). La combinación de transcripción reversa con PCR hace posible la amplificación de ARN viral, el cual generalmente se presenta en baja concentración en los tejidos del hospedante.

PCR es muy sensible. Con la disponibilidad de equipos automáticos en la actualidad, puede llegar a ser la técnica de mayor uso para la detección de patógenos (Beck y Ligon, 1995).

4.4. Métodos serológicos para la detección de virus

Los principios inmunológicos han tenido una importancia considerable en el desarrollo de la virología de plantas. La interacción entre un antígeno y su anticuerpo específico es la base para las pruebas serológicas. Esta interacción puede ser demostrada de diferentes maneras a las cuales se denominan técnicas o pruebas serológicas (Miller y Martín, 1988; Clark, 1981).

4.4.1. Microprecipitación

Consiste en mezclar una gota de antisuero (anticuerpo) diluido en solución salina con una gota de la savia extraída de la planta enferma (antígeno). La agregación de las partículas del virus con el anticuerpo produce la precipitación, observándose al microscopio de luz (Cárdenas, 1992).

4.4.2. Floculación de látex sensibilizado

En esta técnica los anticuerpos o el antígeno pueden ser adsorbidos a partículas de mayor tamaño, tales como látex, bentonita o glóbulos rojos de la sangre. De esta manera, cuando se mezclan ambos reactantes, como en el caso de la microprecipitación, la combinación antígeno-anticuerpo se magnifica, facilitando su observación. Esta técnica ha demostrado ser entre 16 y 1,024 veces más sensible que la microprecipitación (Fribourg y Nakasima, 1980).

4.4.3. Prueba de doble difusión

El antisuero y el antígeno están separados por un gel que constituye el área de reacción. Ambos se colocan en orificios hechos en el gel, se difundirán y formarán una zona de precipitación, donde ambos se encuentren en proporciones óptimas. El modelo formado por la combinación de líneas de precipitación de los orificios adyacentes con antígenos puede proporcionar evidencia acerca del tipo y grado de relación entre ambos antígenos (Avila *et al.*, 1984).

La difusión en gel puede hacerse en placas Petri de plástico con agar (agarosa, Ionagar, etc.) de 0.7 a 1% que contienen 0.2% de azida de sodio como preservativo. Los orificios se cortan con un sacabocado no.2 y el agar se retira por succión. Es preferible colocar el antisuero en el orificio central para ahorrar reactivo. La lectura debe hacerse diariamente sobre un fondo oscuro y luz indirecta (Salazar, 1995).

4.4.4. Ensayo de inmunoabsorción con conjugados enzimáticos (ELISA)

El uso de métodos serológicos de amplificación con enzimas, es hoy en día la técnica preferida para la detección de virus, habiendo reemplazado en casi todos los programas en el mundo a la microprecipitación, la aglutinación de cloroplastos, la difusión en gel y aún la técnica de látex (Chet, 1994; Miller y Martín, 1988 y Landegren *et al.*, 1988).

ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) fue desarrollada por Engvall y Perlmann (1971). Fue empleada primero para detectar anticuerpos contra enfermedades infecciosas en humanos y animales (Voller *et al.*, 1974). Su uso para la detección de virus de plantas fue descrito por Voller *et al.* (1976) y Clark y Adams (1977).

ELISA se basa en la producción de un conjugado anticuerpo-enzima en el cual ambas moléculas retienen sus propiedades individuales. El anticuerpo se adhiere al antígeno mientras que la enzima detecta y amplifica tal reacción.

Varios tipos de ELISA han sido descritos y se aplican de acuerdo con las necesidades de la investigación (Figura 1, Sánchez-Vizcaíno y Cambra, 1981). El tipo más comúnmente usado es el de sandwich de doble anticuerpo (DAS).

4.4.4.1. ELISA de doble anticuerpo (DAS-ELISA)

Se realiza en placas de microtitulación, la prueba consiste en cuatro pasos (Sánchez- Vizcaíno y Cambra, 1981).

1. Recubrimiento de las placas

Las placas se recubren con anticuerpos específicos para el virus (IgG) diluidos en amortiguador de carbonato a pH 9.6 (1.59 g de Na_2CO_3 y 2.93 g de Na_2HCO_3 en un litro de agua destilada). Pueden añadirse entre 200 y 300 μl a cada orificio de la placa y después de sellar la placa, se incuba por 2 a 4 h a 27 °C.

Después de la incubación, se lavan las placas 3 veces por 5 min. Con PBS-Tween (3 g de NaCl, 0.2 g de KH_2PO_4 , 2.9 g de NaH_2PO_4 y 0.2 g de KCl en un litro de agua destilada, pH 7.2, más 0.5 ml de Tween-20).

2. Preparación de las muestras y adición a la placa

La extracción de las muestras se puede realizar de varias formas. La solución de extracción usualmente es PBS, a la cual se le agrega 2% de polivinilpirrolidona (PVP) y 1% de albúmina de huevo. Entre 200 y 250 μl de extracto de las muestras se añaden a cada orificio. Las placas se incuban por 2 a 3 h a 32-37 °C, o toda la noche a 4 °C.

3. Adición del conjugado enzimático

Después de lavar la placa como se indicó en el paso 1, se añade el conjugado adecuadamente diluido en PBS-Tween-PVP-albúmina de huevo. Entre 250 y 300 μl de conjugado se añaden a cada orificio de la placa, que posteriormente se incuba por 3 a 4 h a 37 °C.

4. Adición del conjugado enzimático

Después de lavar la placa como se indicó en el paso 1, se añade el conjugado adecuadamente diluido en PBS-Tween-PVP-albúmina de huevo. Entre 250 y 300 μl de conjugado se añaden a cada orificio de la placa, que posteriormente se incuba por 3 a 4 h a 37 °C.

5. Desarrollo de la reacción

Después de lavar la placa como se indicó anteriormente, se agregan 300 μl de una solución de sustrato. El sustrato a usarse dependerá de la enzima que ha sido conjugada con el anticuerpo. Generalmente se usa la enzima fosfatasa alcalina, cuyo sustrato es p-nitrofenil fosfato.

La concentración del sustrato es entre 0.6 y 0.8 mg ml^{-1} en dietanolamina 1M ajustada a pH 9.8 con HCl. Otras combinaciones enzima-sustrato empleadas comúnmente son: peroxidasa-ortofenildiamina o penicilinas-penicilina.

La reacción puede ser observada visualmente o cuantificada por lectura en un colorímetro o espectrofotómetro. Las muestras positivas usualmente son consideradas aquéllas cuya absorbencia sea superior en 0.05 al promedio de las lecturas de las muestras sanas usadas como control.

4.4.4.2. ELISA en membranas de nitrocelulosa (NCM-ELISA)

El protocolo de NCM-ELISA más usado en la actualidad en papa es el descrito por Lizárraga y Fernández-Northcote (1989). Los nombres de NC-ELISA, dot-ELISA ó DIBA-ELISA han sido usados para describir la misma técnica.

NCM-ELISA es un método indirecto para la detección de virus de plantas se requiere fijar al virus que se va a detectar en un filtro de nitrocelulosa y unir los anticuerpos específicos con el virus. En un paso posterior hay que determinar la presencia del complejo virus-anticuerpo con anticuerpos contra los anticuerpos específicos del virus que han sido marcados con una enzima con sus sustrato en condiciones ideales.

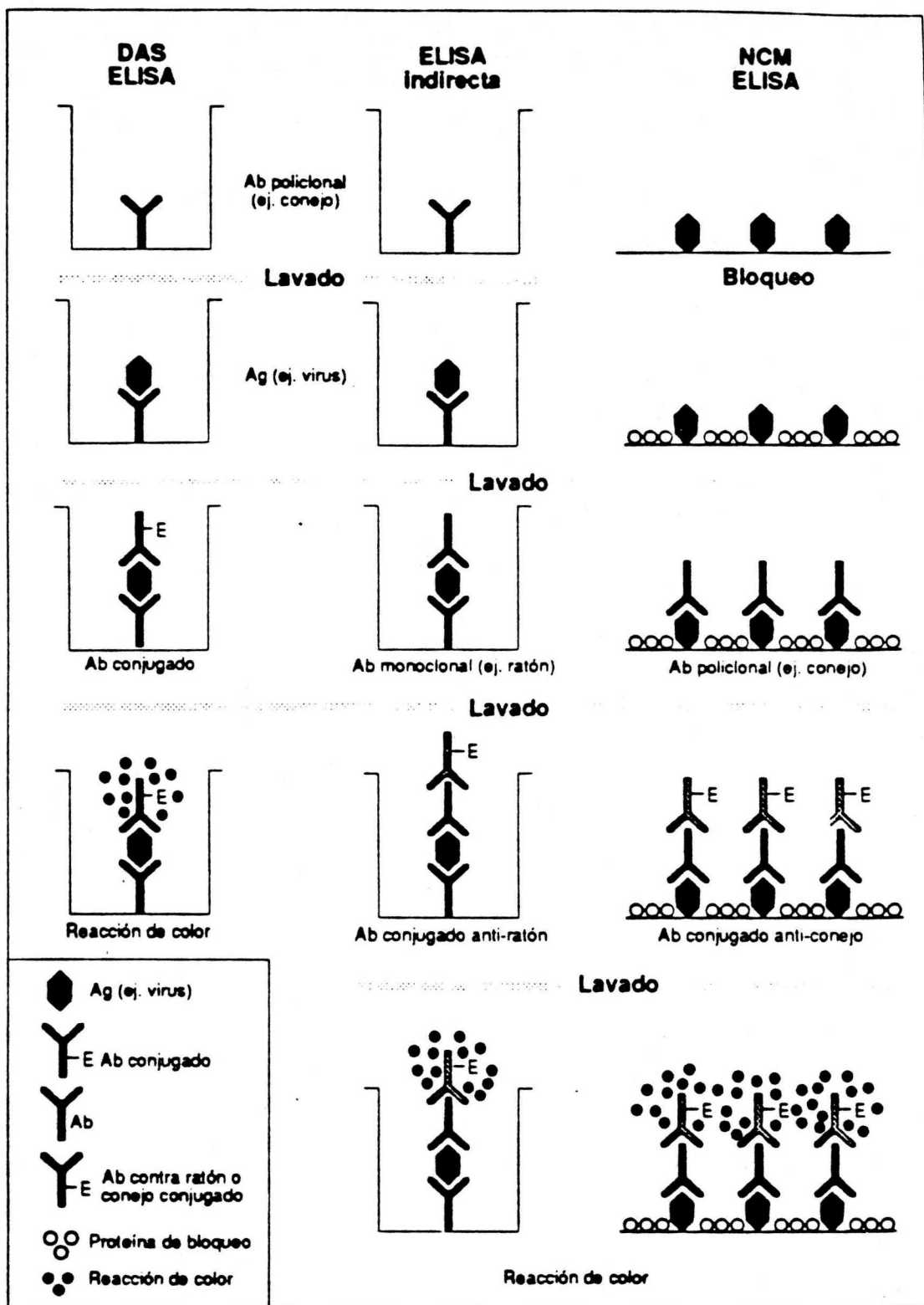


Figura 1. Diagramas comparativos de los diferentes pasos en tres tipos de ELISA-DAS ("sandwich de doble anticuerpo"). La técnica indirecta se realiza en placas de microtitulación mientras que NCM se realiza usando como soporte membranas de nitrocelulosa (Sánchez-Vizcaíno y Cambra, 1981).

4.5. Norma fitosanitaria

En la presente década se han publicado diferentes normas fitosanitarias para cada cultivo que establecen la cuarentena exterior para prevenir la introducción de patógenos inexistentes en el país.

Tal es el caso de la Norma Oficial Mexicana NOM-012-FITO-1996, por la que se establece la cuarentena exterior para prevenir la introducción de plagas de la papa.

En el Cuadro 4, se indican principalmente los virus que se encuentran cuarentenados en México. Es de notarse la ausencia de estos agentes patógenos del Cuadro 4 en papa en el país, en función del listado del Cuadro 2, de ahí su inclusión en la cuarentena.

Cuadro 4. Virus cuarentenados (NOM-012-FITO-1996).

Nombre Común	Nombre científico / técnico
Virosis	virus estriado del tabaco
Virosis	Tobacco necrosis virus virus de la necrosis del tabaco
Virosis	Andean potato latent virus virus latente andino de la papa
Virosis	Andean potato mottle virus virus moteado andino de la papa
Virosis	Potato deforming mosaic virus mosaico deformante de la papa
Viroide	Potato spindle tuber viroid viroide del tubérculo fusiforme de la papa
Fitoplasma	stolbur de la papa
Virosis	Potato virus T virus T de la papa
Virosis	Potato yellow dwarf virus virus del enanismo amarillo de la papa
Virosis	Potato yellow vein virus virus de la vena amarilla
Virosis	Potato black ring spot Nepovirus virus rayado andino cálico de la papa
Virosis	pea streak virus, alfalfa enation strain virus del enanismo rayado de la alfalfa
Virosis	Tomato black ring virus virus anillo negro del tomate
Virosis	Tomato spotted wilt virus virus marchitez manchada del tomate
Virosis	Potato virus Y strain (C) virus Y de la papa raza clorótica
Virosis	Potato virus Y strain (N) Virus Y de la papa, raza necrótica

4.5.1. Aplicación de la Norma Oficial

Como ejemplo, se incluye solo la descripción de los requisitos mexicanos para material vegetal proveniente de Estados Unidos, por ser este el país de donde procede la mayoría de los clones incluidos en el presente trabajo.

"Requisitos fitosanitarios especiales para la importación de vegetales, minitubérculos de papa y plántulas *in vitro* de papa (*Solanum tuberosum*), procedentes de los Estados Unidos de América.

Se requiere preinscripción del material en origen debido a la presencia de las siguientes plagas que son consideradas como de alto riesgo para México:

Minitubérculos de papa : *Corynebacterium sepedonicum*, *Pseudomonas solanacearum*, *Synchytrium endobioticum*, Potato spindle tuber viroid, Yellow dwarf virus, Potato mop-top virus, Alfalfa mosaic virus, Tobacco rattle virus, debe haberse producido en terrenos libres y sin antecedentes de *Meloidogyne chitwoodi*, *Globodera rostochiensis* y *G. pallida*.

Plántulas *in vitro* de papa: virus cascabelero del tabaco, virus M de la papa, virus Y necrótico, viroide del tubérculo fusiforme de la papa, *Erwinia chrysanthemi*, *Corynebacterium sepedonicum*.

Los inspectores acreditados por la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV), que realicen la visita de preinspección certificarán que las plantas fueron producidas en huertos registrados ante el ministerio de agricultura; para las plántulas *in vitro*, que son manejados bajo un sistema de certificación serológica de virus (indexación por ELISA).

El importador y/o exportador deberá sufragar los gastos de esta actividad.

Como resultado de la visita de pre-inspección, se otorgará o negará la autorización de importación en las oficinas de la DGSV en México.

Nota: Para las plántulas *in vitro* de papa. Con base al acuerdo firmado por esta Dirección General con PICTIPAPA, INIFAP y DGIFZ, el 15 de Noviembre de 1995. Se permite la importación de este producto sin preinspección en origen, el material puede ingresar a nuestro país bajo el procedimiento de cuarentena custodia".

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Descripción del área de estudio

La colecta del material vegetal se realizó en los lotes de evaluación del Programa Internacional Cooperativo del Tizón Tardío de la Papa (PICTIPAPA A.C.), localizado en terrenos de la Secretaría de Desarrollo Agropecuario (SEDAGRO) del Estado de México, en coparticipación mediante convenios con el Instituto de Capacitación del ramo (ICAMEX) y el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), en el municipio de Metepec, México, a 10 km al Sureste de Toluca, México y a 60 km al Poniente de la ciudad de México, en una latitud Norte de 19° 12', longitud Oeste de 99° 35' y a una altitud de 2 602 msnm.

El clima se clasifica como C(W₂) (W) b (I'), templado húmedo con lluvias en el verano y poca oscilación térmica.

La temperatura mínima es de 12°C y la máxima de 20°C en el verano, la precipitación anual es de 850 a 900 mm (Lozoya, 1996).

Durante el ciclo agrícola del presente trabajo se presentaron las condiciones meteorológicas incluidas en la Figura 1 del Apéndice II (Cortesía del Dr. Niklaus Grünwald, Universidad de Cornell, para PICTIPAPA, A.C.).

5.2. Prácticas de cultivo

Datos proporcionados por el Ing. Alejandro Hernández Vilchis (PICTIPAPA).

Diseño de la parcela

No se utilizó ningún tipo de diseño experimental, las repeticiones se realizaron en base a la disponibilidad de la semilla-tubérculo. En el primer año de evaluación se empleó un tubérculo por clon, en el segundo y tercer año de evaluación se utilizaron tres tubérculos por clon.

Siembra

- a) Se sembró en invernadero (semilla botánica y plantas *in vitro*), a partir del 17 de abril de 1998.
- b) El transplante del invernadero al campo se llevó a cabo del 19 al 24 de junio de 1998.
- c) La siembra de tubérculos directamente en el campo fue del 8 al 18 de junio de 1998.

Fertilización

Se fertilizó toda la plantación con N-P-K 100-250-150 kg ha⁻¹ y Ca, S, Mg y B 30-100-10-10 kg ha⁻¹.

Herbicidas

- a) Para clones de transplante (semilla botánica y plantas *in vitro*) no se aplicó ningún tipo de herbicida, se realizaron deshierbes.
- b) Se aplicó Metribuzin 600 g ha⁻¹, preemergente para semilla-tubérculo.

Pesticidas para la siembra

Captan y Benomil 2 kg ha⁻¹, Metasystox 1 L ha⁻¹ y Counter 15% 7 kg ha⁻¹. Se aplicaron al momento de la siembra.

Insecticidas

Lannate, Ambush, Folidol, Thiodan, Tamaron y Folimat. Se asperjo al follaje semanalmente.

Fungicidas

- a) Con el fin de evaluar la resistencia al tizón tardío no se aplicaron fungicidas.

Aporque

Se realizó el 17 de julio de 1998.

Primera observación del tizón tardío

El 15 de Julio de 1998.

Incidencia del tizón tardío

Se registraron lecturas semanales para determinar la incidencia del tizón tardío.

Lectura final de la infección del tizón tardío

8 de Septiembre de 1998.

Eliminación de las plantas, quema de follaje

A partir del 21 de Septiembre de 1998.

Fin de la cosecha

30 de Octubre de 1998.

5.3. Muestreo

El 9 de septiembre, es decir, aproximadamente dos meses y medio después de la siembra, se colectó follaje de 352 clones que a esa fecha mostraban resistencia al tizón tardío. Estos genotipos tenían de 1 a 4 años de estarse exponiendo a la infección natural del hongo en el campo. Algunos mostraban síntomas de virosis (Cuadro 5). Posteriormente se trasladaron al laboratorio en bolsas de plástico y se conservaron a 4 °C hasta su maceración y análisis. Después de la cosecha, se colectaron tubérculos solo de las plantas seleccionadas para futuras evaluaciones y se conservaron a temperatura ambiente, hasta su maceración y análisis para las virosis, que generalmente fue inmediato.

Cuadro 5. Número de muestras colectadas para la detección de virus y su procedencia.

Años de evaluación en el campo para resistencia al tizón tardío al verano 1998	Número de muestras	Procedencia
1	25	Universidad de Wisconsin, E.U.A. (UW-USDA)
	12	IPO/DLO, Holanda
	16	Universidad del Estado de Washington E.U.A. (WSU-USDA)
	240	Universidad de Idaho, E.U. A. (UI-USDA)
	8	Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM, MX)
	10	Universidad Autónoma Chapingo (U.A.Ch.)
	1	Holanda, Empresa Comercial
	Subtotal 312	
2	24	Universidad de Idaho, E.U. A. (UI-USDA)
	7	Universidad de Wisconsin, E.U. A. (UW-USDA)
	Subtotal 31	
3	2	Polonia
	3	Universidad de Idaho, E.U. A. (UI-USDA)
	Subtotal 5	
4	4	Universidad de Wisconsin, E.U.A. (UW-USDA)
	Subtotal 4	
Total	352	

5.4. Detección de virus

5.4.1. ELISA

Se utilizó la metodología desarrollada por Clark y Adams, 1977 y descrita en México por Téliz y Mora, 1986, la cual se realizó en el Laboratorio de Virología del Departamento de Parasitología Agrícola en La Universidad Autónoma Chapingo. El procedimiento se describe a continuación.

1. A cada pozo de la placa, se le agregó 100 μ l de anticuerpo diluido en amortiguador de cobertura.
2. Se incubó 4 h a temperatura ambiente.
3. Se lavó la placa con amortiguador PBST de 5 a 8 veces.
4. Se sacudió la placa fuertemente sobre toallas de papel.

5. Se maceraron las muestras con el amortiguador de extracción en una proporción de 1:10 (p/v).
6. Se agregó 100 μl de la savia de cada muestra por pozo. Se incluyó 2 repeticiones por muestra, testigo negativo (planta sana), testigo positivo (planta enferma) y otros testigos que consistieron solo de amortiguador de extracción.
7. Se incubó toda la noche a 4 °C.
8. Se lavó la placa con amortiguador PBST de 5 a 8 veces.
9. Se sacudió la placa fuertemente sobre toallas de papel.
10. Se agregaron 100 μl de conjugado por pozo diluido en amortiguador ECI 1x (conjugado para fosfatasa alcalina)
11. Se incubó la placa 2 h a temperatura ambiente.
12. Se lavó la placa con amortiguador PBST de 5 a 8 veces.
13. Se sacudió la placa fuertemente sobre toallas de papel.
14. Se agregaron 100 μl de sustrato (p.nitrofenil fosfato) por pozo diluido en una proporción de 0.5 mg mL⁻¹ de amortiguador PNP.
15. Se incubó la placa 30 min en la oscuridad.
16. Se pasó la placa a un espectrofotómetro lector a 405 nm de longitud de onda.
17. Una muestra se consideró positiva si el valor obtenido en el espectrofotómetro fue 3 veces mayor al valor del testigo (muestra de la planta sana) y que exhibió un color amarillo no observado en los testigos negativos.

5.4.2. Amortiguadores

1. Amortiguador de cobertura

Se disolvió en 1000 mL de agua destilada:

Carbonato de sodio	1.59	g
Bicarbonato de sodio	2.93	g
Azida de sodio	0.2	g

Se ajustó el pH a 9.6 y se almacenó a 4 °C.

2. Amortiguador PBST, de lavado

Se disolvió en 1000 mL de agua destilada:

Cloruro de sodio	8.0	g
Fosfato de sodio dibásico	1.15	g
Fosfato de potasio monobásico	0.2	g
Cloruro de potasio	0.2	g
Tween-20	0.5	g

Se ajustó el pH a 7.4

3. Amortiguador de extracción

Se disolvió en 1000 mL de PBST:

Sulfito de sodio	1.3	g
Polivinilpirrolidona pm 24-40,000	20.0	g
Azida de sodio	0.2	g
Albúmina de huevo de pollo	2.0	g
Tween-20	20.0	g

Se ajustó el pH a 7.4 y se almacenó a 4°C

4. Amortiguador ECI

Se disolvió en 1000 mL de PBST:

Albúmina de bovino	2.0	g
Polivinilpirrolidona PM 24-40,000 ...	20.0	g
Azida de sodio	0.2	g

Se almacenó a 4 °C

5. Amortiguador PNP

Agua destilada	800.0 mL
Cloruro de magnesio	0.1 g
Azida de sodio	0.2 g
Dietanolamina	97.0 g

Se ajustó el pH a 9.8 usando HCl concentrado y se ajustó el volumen final a 1000 mL con agua destilada. Se almacenó a 4 °C.

5.5. Antisueros utilizados

Se adquirieron con la empresa Agdia Inc. (30380 County Road 6 Elkhart, Indiana 46514 USA) y fueron contra los siguientes virus:

- a) Virus X de la papa (PVX)
- b) Virus Y de la papa (PVY)
- c) Virus S de la papa (PVS)
- d) Virus M de la papa (PVM)
- e) Virus A de la papa (PVA)
- f) Virus del enrollamiento de las hoja de la papa (PLRV)
- g) Virus latente andino de la papa (APLV)
- h) Virus mosaico aucuba de la papa (PAMV)

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Virus detectados

Se obtuvieron muestras positivas para los virus: PVX, PVY, PVS, PLRV y PAMV, resultando muestras negativas para los virus PMV, PVA y APLV (Cuadro 6A, 6B, 6C y 6D).

De un total de 312 clones muestreados de primer año, 62 resultaron positivos para algún virus (20%). El PVX se detectó en 49 clones; PVY en cuatro, PVS en ocho, PLRV y PAMV en tres clones cada uno. De estos, solo dos muestras de follaje tuvieron mezclas de virus; la muestra 65 (clon 275182 IO) con PVX-PVY, y la muestra 86 (cv. Torridon) con PVS-PLRV (Cuadro 6A). La muestra 65 no presentó síntomas durante el muestreo, curiosamente el mismo clon con síntomas solo presentó el PVX, no produjo tubérculo por lo que no se seleccionó, y solo se le hizo ELISA al follaje.

Seis muestras fueron positivas para el PVX y dos para el PVS tanto en follaje como en tubérculo, mientras que en los tubérculos hubo 27 positivas para el PVX, una para el PVY, seis para el PVS, dos para el PLRV y tres para el PAMV. Solo tres muestras de tubérculo presentaron mezclas de virus: 57 y 59 con PVX-PAMV, y la 305 con PLRV-PAMV (Cuadro 6A).

Considerando que el muestreo de la parte aérea se hizo a casi tres meses de la siembra, hubo suficiente tiempo tanto para incidencias normales en las hojas como para infecciones tardías de virus detectadas solo en el tubérculo.

Es importante notar que 24 materiales de este grupo resultaron con rendimientos de tubérculo superiores a 1 kg/planta, por lo que la virosis no afectaron su producción.

En clones de segundo año, se detectaron nueve muestras con el PVX, una con el PVS, una con mezcla de PLRV y PAMV, de 31 analizadas (35% infectadas). Dos clones tuvieron el PVX tanto en follaje como en tubérculo (Cuadro 6B).

De los cinco clones de tercer año, uno resultó positivo en follaje con mezcla del PVX y PLRV (D8-399), otro con el PVS en el follaje (A9517-28), y uno más con el PVS en el tubérculo (D8-330) (Cuadro 6C). Es decir, un 60% de los clones resultó con virus (3 de 5).

Cuadro 6. Muestras positivas para virus de diverso año de evaluación en el campo para resistencia al tizón tardío en el Valle de Toluca en 1998.

A. Clones evaluados por primera vez de un total de 312 muestreados.

Muestra	Clon	a Mejo rador	Institución	b %Infección foliar final	c Rend. g/planta	PVX		PVY		PVS		PVM		PVA		PLRV		APLV		PAMV		* Selecciona dos para el próximo año
						dF	dT	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	
38	95LB1-264	H	UW-USDA	35	650	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
45	95LB2-44	H	UW-USDA	10	850	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
48	95LB2-80	H	UW-USDA	15	900	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
*51	95LB2-82	H	UW-USDA	20	300	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
55	95LB1-9	H	UW-USDA	25	600	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
56	SARQUIS-1	S	UNAM-MX	30	1025	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
57	SARQUIS-2	S	UNAM-MX	30	1050	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	✓
58	SARQUIS-3	S	UNAM-MX	40	915	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
59	SARQUIS-4	S	UNAM-MX	40	1095	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	✓
60	SARQUIS-5	S	UNAM-MX	50	1000	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
61	SARQUIS-6	S	UNAM-MX	50	942.5	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
62	SARQUIS-7	S	UNAM-MX	20	1095	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
63	SARQUIS-8	S	UNAM-MX	60	792.5	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
65	275182(IO)	B	UW-USDA	5		+	x	+	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
*66	275182(IO)	B	UW-USDA	5		+	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
67	251740(PA)	B	UW-USDA	10		+	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
73	Victor	B	UW-USDA	40		+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
74	W-2	W	HOLANDA	25		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
84	Kartel		HOLANDA	15		-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
85	Monserate	CH	WSU-USDA	10	560	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
86	Torridon	CH	WSU-USDA	15	1460	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	✓
93	AWN86514-2	CH	WSU-USDA	10	1566	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
94	97HGS1-14	CH	WSU-USDA	10	200	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
*95	G6582-3	CH	WSU-USDA	10	1280	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
96	G6582-3	CH	WSU-USDA	10	1280	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
97	97HGS1-94	CH	WSU-USDA	10	400	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
*99	575045	CH	WSU-USDA	10	1200	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
*100	385240-2	CH	WSU-USDA	30	500	+	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	✓
102	A96760-13	C	UI-USDA	30	750	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓

B. Clones de segundo año de un total de 31 muestreados

Muestra	Clon	Mejorador	Institución	%Infección foliar final	Rend. g/planta	PVX		PVY		PVS		PVM		PVA		PLRV		APLV		PAMV		* Selección dos para el próximo año
						F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	
*8	A9517-51	C	UI-USDA	30	366	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
9	A9520-3	C	UI-USDA	20	633	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
14	A9525-12	C	UI-USDA	25	500	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
15	A9525-16	C	UI-USDA	30	400	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
19	A9583-8	C	UI-USDA	20	966	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	✓
21	A9583-26	C	UI-USDA	40	700	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
22	A9540-54	C	UI-USDA	30	766	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
23	A9540-55	C	UI-USDA	30	450	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
30	LB2-44	H	UW-USDA	40	150	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
31	A9588-53	C	UI-USDA	25	766	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
72	Stoloniferum	B	UW-USDA	5		-	x	-	x	+	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	

C. Clones de tercer año de un total de cinco muestreados

Muestra	Clon	Mejorador	Institución	%Infección foliar final	Rend. g/planta	PVX		PVY		PVS		PVM		PVA		PLRV		APLV		PAMV		* Selección dos para el próximo año
						F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	
1	D8-330	E	POLAND	'S	833	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
2	D8-399	E	POLAND	'S	375	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	✓
29	A9517-28	C	UI-USDA	25	566	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓

D. Clones de cuarto año de un total de cuatro muestreados

Muestra	Clon	Mejorador	Institución	%Infección foliar final	Rend. g/planta	PVX		PVY		PVS		PVM		PVA		PLRV		APLV		PAMV		* Selección dos para el próximo año
						F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	
3	J101A15	H	UW-USDA	'S		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓

*Con síntomas al momento del muestreo

^aH: J.P. Helgeson, B: J. Bamberg, CH: C. Brown, C: D. Corsini, E: E. Zimnoch, L: H. Lozoya, W: W. Flier, S: Sarquis.

^bÚltima lectura semanal a los 90 días de la siembra.

^{b,c}Datos proporcionados por el Ing. Alejandro Hernández Vilchis (PICTIPAPA, A.C.).

^dF: Follaje, T: Tubérculo, +: muestra positiva, -: muestra negativa

*✓: Seleccionado para evaluación de resistencia al tizón tardío para 1999.

X: No hubo muestra de tubérculo o follaje.

'S: materiales con aspersión de fungicidas al follaje, ya sea por susceptibilidad al tizón tardío o para optimizar rendimiento de tubérculo para semilla.

En lo que respecta a los clones de cuarto año, sólo en un clon, se detectó a PVX (Cuadro 6D).

El virus X de la papa (PVX), resultó en mayor proporción en todos los clones analizados. Este virus puede encontrarse en cualquier parte donde se cultiva la papa. En la República Mexicana, se encuentra ampliamente distribuido (Rangel *et al.*, 1989; Cadena *et al.*, 1992 y Lozoya y Rosas, 1995). Esto es debido a que es fácilmente transmitido en la naturaleza de manera mecánica. El hombre puede diseminar a los virus cuando maneja plantas sin tomar precauciones de higiene, o accidentalmente, al frotar las plantas con ropa contaminada. Los animales también pueden diseminar a los virus de la misma forma cuando rozan las plantas al caminar entre ellas. Por otra parte, puede existir transmisión por contacto entre tubérculos (Loughnane y Murphy, 1938; Salazar, 1995).

Los virus PVS, PVY y PLRV; se encontraron en menor proporción, los primeros dos se transmiten mecánicamente y todos además son transmitidos por especies de áfidos, *Myzus persicae*, el cual es sin duda la especie más frecuente y más eficiente de transmitir a todos los virus que se transmiten por áfidos, y está diseminado en todos los lugares donde se cultiva la papa (Harris y Maramorosch, 1977). La relativa baja incidencia viral se debe a que se tuvo un buen control de vectores durante el proceso de cultivo (ver prácticas de cultivo).

En el presente trabajo se detectó el PAMV (*Potexvirus* no reportado en México) en cuatro muestras; este virus es transmitido mecánicamente y por áfidos con un virus ayudante como PVY o PVA (Kassanis, 1961). Coincidentemente este virus se encontró mezclado con el PLRV en las muestras 19 y 305 provenientes de la Universidad de Idaho, E.U. (Cuadro 6A y 6B). Sin embargo, es necesario que se realicen más pruebas para confirmar su presencia (plantas diferenciales, microscópio electrónico, etc., fuera de los alcances del presente trabajo).

El 6.4% de los clones infectados, corresponden a muestras con más de un virus, como son: muestra número 65 (PVX y PVY), muestra 86 (PVS y PLRV), muestra 305 (PLRV y PAMV) (Cuadro 6A); muestra 19 (PLRV y PAMV) (Cuadro 6B) y muestra número 2 (PVX y PLRV) (Cuadro 6C).

El 89.6% de los clones infectados con algún tipo de virus no presentaron síntomas de virosis al momento de la colecta de los folíolos. Bos (1978) mencionó que la ausencia de síntomas en cultivares infectados con un virus en particular puede ser controlado por el genotipo del hospedante. También depende de los virus que tienen variantes que son menos severas que otras. Díaz y Cadena (datos no publicados), han observado que algunas zonas paperas de la región central de México; i.e., Toluca, Hidalgo y Tlaxcala, por lo general no presentan síntomas severos del PVX en las variedades Alpha y Sangema, lo que pudiera deberse a una protección inducida por virus, dado que existe alta incidencia de una variante asintomática. Además, las condiciones ambientales, influyen en el desarrollo de síntomas, por ejemplo, los mosaicos por PVX a menudo no son detectados a temperaturas arriba de 28°C o por abajo de 10 a 12 °C (Salazar *et al.*, 1985). Los inspectores de semillas, aceptan que la variación de síntomas virales durante el día parece estar relacionada con la incapacidad del ojo humano para percibir algunos colores bajo ciertas condiciones de luz. De hecho, los días sombríos son más adecuados que los brillantes para detectar mosaicos suaves en las plantas de papa en el campo, porque existe un mejor contraste de color (Salazar, 1995).

Los virus PVX, PVS, PVY y PLRV que fueron detectados en este trabajo, coinciden con los resultados de Pinto (1984) y Rangel *et al.* (1989), en donde confirman la presencia de los virus PVX, PVY y PVS. Piña (1984), detectó por medio del método de ELISA a los virus PLRV, PVX y PVY, en materiales de papa en las sierras y valles de los Estados de México, Tlaxcala y Puebla.

El número de clones muestreados por año de prueba es diferente por la eliminación natural debido al tizón tardío y a la selección en base a características generales agronómicas de los genotipos, es decir, a más años de siembra corresponden menos clones que se conservan. No obstante, en relación a la infección viral, por lo menos de primer a tercer año de evaluación, se observó que a más evaluaciones corresponde mayor porcentaje de muestras infectadas (primer año 20 %, segundo año 35 % y tercer año 60 %).

Esto significa, que los clones evaluados se infectaron de manera natural en el campo, es decir, fueron infecciones primarias.

No se incluyen en esta comparación a los clones de cuarto año, porque en el ciclo de cultivo del presente trabajo, dichos materiales tuvieron cuidados y tratamientos especiales. No estuvieron sujetos a evaluación de resistencia al tizón, sino que su siembra fue con propósito de incremento o de producción de semilla (H. Lozoya, comunicación personal), es decir, estuvieron sobreprotegidos con pesticidas.

Es importante saber que tipo de virus se encuentran presentes en los clones y cultivares que se estén evaluando en campo para resistencia al tizón tardío, porque muchas veces la presencia de algunos virus "protege" a las plantas de la infección por algunos hongos, éste es el caso mencionado de la infección por *Phytophthora infestans* (Fernández de Cubillos y Thurston, 1975). Este fenómeno cobra relevancia particular en el presente estudio, pues 61 de las 77 muestras positivas, es decir, casi el 80% de los clones infectados fueron seleccionados para futuras evaluaciones de resistencia al tizón. Habrá que dilucidar si la resistencia mostrada no ha sido conferida por la infección viral.

6.2. Incidencia de virosis

Considerando la incidencia total de virosis en follaje y tubérculo, para el PVX fue de 13.9% en clones de primer año, 2.55% en clones de segundo año y 0.28% en clones de tercer y cuarto año (Figura 2). La gran incidencia de este virus en los materiales de reciente introducción se debe al mayor número de muestras tomadas a este grupo (312) con respecto a los otros (31 de segundo año, cinco de tercer año y cuatro de cuarto año en el Valle).

Para el PVY fue del 1.13% en clones de primer año, no se detectó a este virus en los demás clones. El PVS en clones de primer año tuvo 2.27, 0.28 en clones de segundo año y 0.56 en clones de tercer año. Para los virus PLRV y PAMV la incidencia fue del 0.85% en clones de primer año y 0.28% en clones de segundo. El PLRV en clones de tercer año tuvo una incidencia de 0.28%. A nivel general, el PVX presentó mayor incidencia con un 17%, seguido por PVS con 3.11%, PLRV con 1.41%, PVY y PAMV con 1.13% (Figura 2).

Pinto (1984) mencionó que la incidencia de los virus PVX, PVY y PVS resultó ser alta; en la variedad López se detectó hasta un 81% de plantas infectadas con estos virus y en la variedad Greta un 59% de plantas infectadas con estos mismos patógenos.

La incidencia del PLRV reportada por Piña (1984) fue de 46.01% en el edo. de Puebla, 44.14% en el edo. de Tlaxcala y 35.4% en el Valle de Toluca.

Para nuestro caso, la incidencia de los virus detectados en realidad fue baja, sin embargo, se debe tener cuidado en el manejo de estos materiales, porque el tubérculo puede actuar fácilmente como vector de virus si no se toman las medidas necesarias para evitarlo.

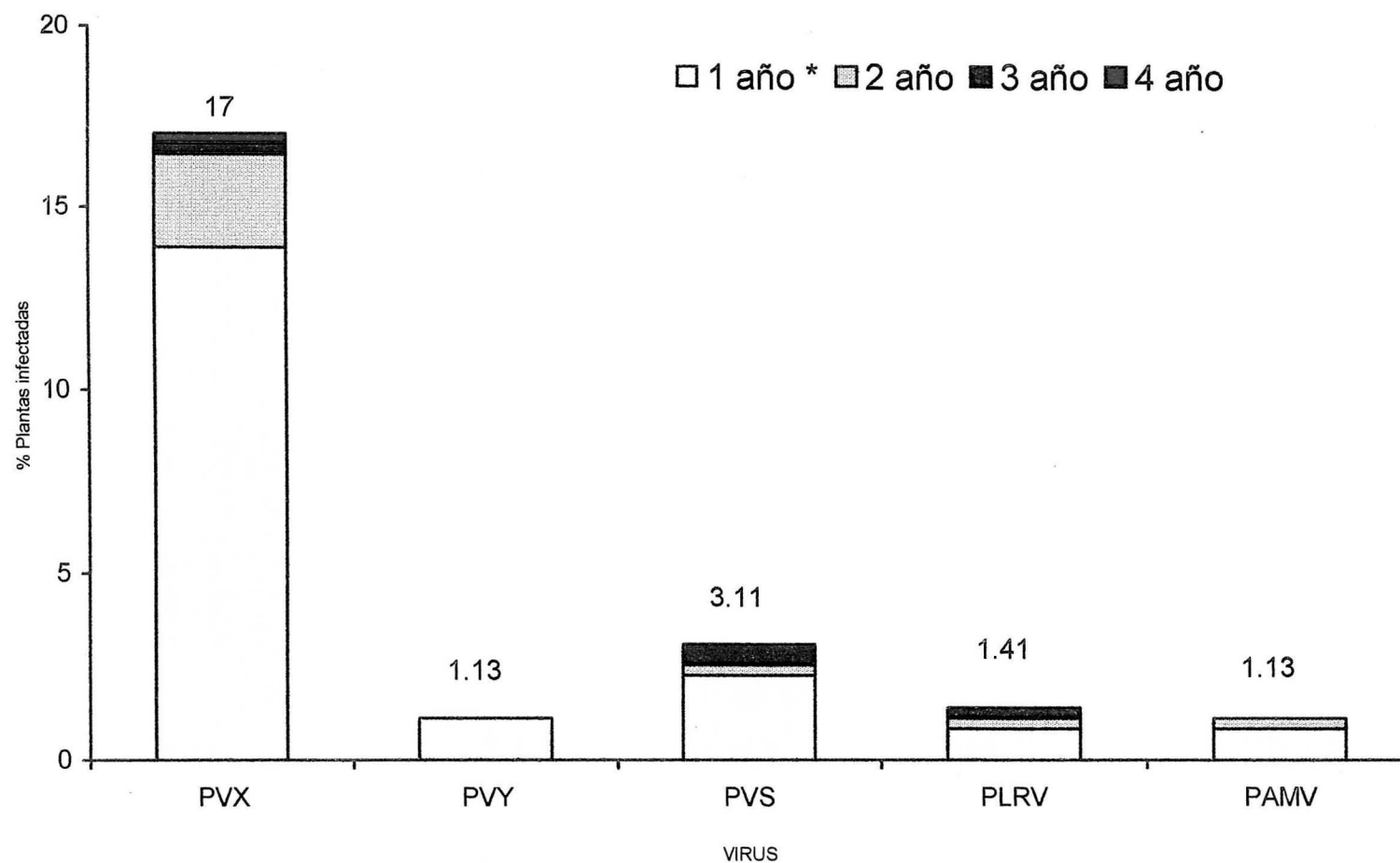


Figura 2. Incidencia de virosis en clones de papa sembrados en el Valle de Toluca, Edo. de México, 1998.

* Años de evaluación en el campo para la resistencia al tizón tardío.

7. CONCLUSIONES

1. Se detectaron cinco virus: virus X de la papa (PVX), virus Y de la papa (PVY), virus S de la papa (PVS), virus del enrollamiento de la hoja de la papa (PLRV) y el virus mosaico aucuba de la papa (PAMV). No se detectaron a los virus latente andino de la papa (APLV), virus M de la papa (PVM) y al virus A de la papa (PVA).
2. La incidencia de los virus detectados fue: PVX:17%, PVY: 1.13%, PVS: 3.11%, PLRV: 1.41% y PAMV: 1.13%.
3. A más años de evaluación correspondió mayor incidencia de virosis general (primer año 20%, segundo año 35%, tercer año 60%), por lo que tuvieron infección primaria en el campo.
4. La infección viral no influyó en el rendimiento de tubérculo, además solo 1.7% de muestras de tubérculo fueron positivas, por lo que se considera a la infección como tardía

8. LITERATURA CITADA

- Abad, J.A. 1979. Estudio comparativo de dos aislamientos del virus T de la papa. Tesis de M.Sc. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú. 90 p.
- Agrios, N. G. 1996. Fitopatología. Trad. Plant pathology. Third edition. 2ed. México. Ed. Limusa. México, D.F. 838 p.
- Anónimo, 1995. Centro Internacional de la Papa (CIP). Informe Anual. Lima Perú. p. 10-13.
- Anónimo, 1996. Organización Norteamericana de Protección a las Plantas. NAPPO. Documento interno.
- Ausubel, F., R. Brent, R. Kingston, D. Moore, J.G. Siedman, J.A. Smith, K. Strhul. 1992. Current protocols in molecular biology New York. Greene Publishing. Vol. 11.12 1-15 p.
- Avila, A.C., L.F. Salazar, M. Ortega y J.Daniels. 1984. A new strain of Andean potato mottle virus from Brazil. Plant Dis. 68: 997-998.
- Bagnall, R. H., C. Wetter, and R. H. Larson. 1959. Differential host and serological relationships of potato virus M, potato virus S and carnation latent virus. Phytopathology 49: 435-442.
- Banttari, E. E., P. J. Ellis, S. M. P. Khrona. 1993. Management of diseases caused by viruses and viruslike pathogens. *In*: Rowe, R.C. (ed.). 1993. Potato health management. APS PRESS. The American Phytopathological Society. U.S.A. p. 127-134.
- Barker, H., K. D. Webster and B. Reavy. 1993. Detection of potato virus Y in potato tubers: a comparison of polymerase chain reaction and enzyme linked immunosorbent assays. Potato Res. 36: 13-20.
- Barnes, L.W. 1994. The role of plant clinics in disease diagnosis and education. A north american perspective. Ann. Rev. Phytopathol. 32: 601-609.
- Barnett, O. W. and A. F. Murrant. 1970. Host range, properties and purification of raspberry bushy dwarf virus. Ann. Appl. Biol. 65: 435-499.
- Baulcombe, D. C., R. B. Flavell, R. E. Boulton and G.J. Jellis. 1984. The sensitivity and specificity of a rapid nucleic acid hybridization method for the detection of potato virus X in crude sap samples. Plant Pathology. 33: 361-370.
- Bawden, F. C., B. Kassanis and H.L. Nixon. 1950. The mechanical transmission and some properties of potato paracrinkle virus. J. Gen. Microbiol. 4: 210-219.

- Beck, J.J. and J.M. Ligon. 1995. Polymerase chain reaction assays for the detection of *Stagonospora nodorum* in wheat. *Phytopathology*. 85: 319-324.
- Bos, L. 1978. Symptoms of virus diseases in plants. Centre for Agricultural Publishing and Documentation. Wageningen, Holanda. 225 p.
- Brunt, A.A., K. Crabtree, M. Dallwitz. 1996. Viruses of plants: descriptions and lists from the VIDE database. Oxon: CAB International. 1484 p.
- Cadena, H. M. A., M. Díaz V. y A. Rivera P. 1992. Estudio preliminar sobre las enfermedades virosas de la papa silvestre en la mesa central. *Rev. Mex. Fitopatología* 9: 126-128.
- Cárdenas, S. E. 1992. Diagnóstico e identificación de virus en hortalizas. En: Anaya, R.S., M.N. Bautista y R.B. Domínguez (eds.). Manejo Fitosanitario de las Hortalizas en México. Centro de Entomología y Acarología. Mayo, 1992. Chapingo, México. Pág. 327-332.
- Chet, I. 1994. Biotechnology in plant disease control. Wiley-Liss. P. 321-339.
- Clark, M.F. and A.N. Adams. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34: 475-483.
- Clark, M.F. 1981. Immunosorbent assays in plant pathology. *Ann. Rev. Phytopathology*. 19: 83-106.
- Daniels, J., T. C. P. Corvalho and D.A. Bisognim. 1995. Virus P da batata-um carlavirus encontrado no Rio Grande do Sol. Trabajo presentado en el I Congreso Latinoamericano da Cultura da Batata, Curitiba, Brasil. Marco de 1995.
- Davidson, T. M. W. 1973. Assessing resistance to leafroll in potato seedlings. *Potato Res.* 16: 99-108.
- De Bokx, J. A. 1972. Test plants. *In*: De bokx, J.A. (ed.). Viruses of potato and seed potato production. Centre for Agric. Pub. and Doc., Wageningen, Holanda. 102-110 p.
- Diener, T. O. 1979. Viroids: Structure and function. *Science*. 205: 859-66
- Doi, Y., M. Teramaka, K. Yora and H. Asuyama. 1967. Mycoplasma or PLT group-like microorganisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellows, or paulownia witches' broom. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan*. 33: 259-266.

- Douglas, D. R. and J. J. Pavek. 1972. Net necrosis of potato tubers associated with primary, secondary and tertiary infection of leafroll. *Am. Potato. J.* 49: 330-333.
- Engvall, E. and P. Perlmann. 1971. Enzyme - linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin. *G. Immunochemistry* 8: 871-874.
- Fernández de Cubillos, C. and H.D. Thurston. 1975. The effect of viruses on infection by *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in potatoes. *Am. Potato J.* 52: 221-226.
- Fernández - Northcote, E. N. 1986. Peru tomato virus (PTV). *In: ISHS-Vegetable virus working group. 14 th Annual Newsletter.* p. 13-14.
- Fribourg, C. E., A. M. Hinostroza de Le Keu, and R.A.C. Jones. 1975. Host range some properties and beetle transmission of four isolates of andean potato latent virus from Perú. *Proc. 6th Triennial Conf. Eur. Assoc. for Potato Res.* p. 103.
- Fribourg, C. E., R. A. C. Jones and R. Koenig. 1977. Host plant reactions, physical properties and serology of three isolates of Andean potato latent virus from Peru. *Ann. Appl. Biol.* 86: 373-380.
- Fribourg, D. E. y J. Nakasima. 1980. La prueba de aglutinación de látex como método rutinario para la detección de virus de papa. *Resúmen. Fitopatología.* 14:45.
- Fribourg, C. E. and J. Nakashima. 1984. Characterization of a new potyvirus from potato. *Phytopathology* 74: 1363-1369.
- Fuentes, S. y U. Jayasinghe. 1993. Amarillamiento de la papa causado por un nuevo virus baciliforme. *Fitopatologia* 28: 22-37.
- Galindo, A. J. 1987. Generalidades sobre los viroides y sus enfermedades que causan en: *Temas de virología II.* Alvizo, V. H. , Lozoya, S. H. 1987. Sociedad Mexicana de Fitopatología, Chapingo, México.
- Gibbs, A.J., E. Hecht-Poinar, R.D. Woods and R.K. Kee. 1966. Some properties of three related viruses: Andean potato latent, Dulcamara mottle and Ononis yellow mosaic. *J. Gen. Microbiol.* 44: 177-193.
- Gross, H. J., H. Domdey, C. Lossow, P. Jank, M. Raba, H. Alberty and H.L. Songer. 1978. Nucleotide sequence and secondary structure of potato spindle tuber viroid. *Nature* 273: 203.
- Harris, K.F. and K. Maramorosch. 1977. Aphids as virus vectors. Academic Press, Inc., Nueva York, EE.UU. 559 p.
- Harrison, B.D. and R.A.C. Jones. 1970. Host range and some properties of potato mop-top virus. *Ann. Appl. Biol.* 65: 393-402.

- Hernández, E.C. 1994. Virosis en chile (*Capsicum annuum* L. y *C. frutescens* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) y maleza en nueve localidades de Yucatán y evaluación de tolerancia en *Lycopersicon* spp. Tesis de Maestría. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 72 p.
- Hinostroza, A. M. 1973. Isolation of infectious ribonucleic acid from leaves of *Chenopodium quinoa* infected with potato virus S. *Phytopathology* Z. 76: 149-152.
- Hooker, W. J. 1981. Compendium of potato diseases. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN, E.U. 125 p.
- Hooker, W. J. and L.F. Salazar. 1983. A new plant virus from the high jungle of the Eastern Andes: *Solanum* apical leafcurling virus (SALCV). *Ann. Appl. Biol.* 103: 449-454.
- Hunter, D. E., D.H. Darling and W. L. Beale. 1969. Seed transmission of potato spindle tuber virus. *Am. Potato J.* 46: 247.
- Jones, R. A. C. and C. E. Fribourg. 1977. Beetle, contact and potato true seed transmission of Andean potato latent virus. *Ann. Appl. Biol.* 86: 123-128.
- Jones, R. A. C. and B. D. Harrison. 1969. The behavior of potato mop-top virus in soil, and evidence for its transmission by *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh. *Ann. Appl. Biol.* 63:1-17
- Jones, R. A. C. 1982. Tests for transmission of four potato viruses through potato true seed. *Ann. Appl. Biol.* 100: 315-320.
- Kassanis, B. 1961. The transmission of potato aucuba mosaic virus by aphids from plants also infected by potato viruses A or Y. *Virology* 13: 93-97.
- Kennedy, J. S., M.F. Day and V.F. Eastop. 1962. A conspectus of aphids as vectors of plant viruses. *Comm. Inst. Ent., London.* p. 114
- Khurana, S.M.P., R. A. Singh y D.M. Kaley. 1988. Mycoplasma-associated potato Diseases and their control in India. *In: Maramorosch, K. y S. P. Raychaudhuri (eds.). Mycoplasma diseases of crops: Basic and applied Aspects.* Springer-Verlag, Inc., Nueva York, EE.UU. p. 285-316.
- Kus, M. 1990. Potato tuber ring necrosis disease. *En: Abstr. 11th Triennial Conf. Of Eur. Assoc. for Potato Res. Edinburgo, Escocia.* p. 196.
- Landegren, U., R. Kaiser, C.T. Caskey and L. Hood. 1988. DNA diagnosis-molecular techniques and automation. *Science* 242: 229-237.

- Lizárraga, C. and E.N. Fernández-Northcote. 1989. Detection of potato viruses X and Y in sap extracts by a modified indirect enzyme linked immunosorbent assays on nitrocellulose membranes (NCM-ELISA). *Plant Dis.* 73: 11-14.
- Loughnane, J.B. and P.A. Murphy. 1938. Dissemination of the potato spindle tuber virus and virus X by cultivating and hilling equipment. *Am. Potato J.* 38: 346-352.
- Lozoya-Saldaña, H. y E. Rosas-Romero. 1995. Virosis en papa no semilla. Resúmen VI Congreso Nacional de la Papa. CONPAPA, A.C. Saltillo, Coah.
- Lozoya, S.H. 1996. PICTIPAPA, una Estrategia Internacional de Investigación en Tizón Tardío. *Rev. Mexicana de Fitopatología* 14: 156-158
- Martínez, S. J. P. 1996. Mexican Papita Viroid. Putative ancestor of crop viroids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93:9397-9401
- Matthews, R. E. F. 1991. Viroids, Satellite Viruses, and Satellite RNAs *In: Plant Virology.* Third Edition Academic Press Inc.
- Mayo, M. A. and G. P. Martelli. 1993. New families and genera of plant viruses. *Archives of virology.* 133: 496-498.
- Maule, A. J., R. Hull and J. Donson. 1983. The application of spot hybridation to the detection of DNA and RNA viruses in plant tissues. *J. Virol. Meth.* 6: 215-224.
- Miller, S.A. and R.R. Martin. 1988. Molecular diagnosis of plant diseases. *Ann. Rev. Phytopathol.* 25: 383-404.
- Milne, R. C. 1988. Quantitative use of the electron microscope decoration technique for plant virus diagnosis. *Instituto di Fitovirologia. Acta. Hort.* 234: 321-329.
- Milne, R.G. and D.E. Lessemann. 1984. Immunosorbent electron microscopy in plant virus studies. *In: K. Maramorosch and H. Koprowsky (eds.). Methods in virology: Academic Press, Nueva York. EE.UU. p. 85-100.*
- Mohamed, N.A., W. Thomas and M.E. Fry. 1980. Properties of a carlavirus causing a latent infection of pepino (*Solanum muricatum*). *Ann. Appl. Biol.* 95: 191-196.
- Munro, J. 1960. The reaction of some potato varieties and seedlings to potato virus F. *Am. Potato J.* 37: 249-256.
- Murphy, P. A. and R. Mackay. 1932. Methods for investigating the virus diseases of the potato, and some results obtained by their use *Scient. Proc. R. Dublin Soc.* 18: 169-184.
- Niederhauser, J. S. 1992. International Cooperation in Agricultural Research and Development. *HortScience* 27:962-967.

- Owens, R. A. and T.O. Diener. 1981. Sensitive and rapid diagnosis of potato spindle tuber viroid disease by nucleic acid hybridization. *Science* 213: 670-672.
- Pinto, V. M. 1984. Detección de virus de la papa (*Solanum tuberosum*, L.) y evaluación de su incidencia en el municipio de Nauzontla, Pue. Tesis Profesional. Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Méx. p.59
- Piña, R.J. 1984. El virus del enrollamiento de las hojas de papa (PLRV) en las sierras y valles del altiplano. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. p.72
- Querci, M. 1993. Molecular characterization of potato virus X: Development of detection probes and identification of the resistance-breaking capacity of strain HB. Tesis Ph. D. Wageningen Agricultural University, Holanda. 133 p.
- Querci, M., R.A. Owens, C. Vargas and L.F. Salazar. 1995. Detection of potato spindle tuber viroid in avocado growing in Peru. *Plant. Dis.* 79: 196-202.
- Ramírez, V. J., V.J. López y V.C. López. 1990. Enfermedades del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en Yurécuaro y Tanuato Michoacán. Memoria del XVII Congreso Nacional de Fitopatología. Culiacán, Sin. P. 57.
- Rangel-González, J. A., H. Lozoya-Saldaña y M. J. Villarreal-González. 1989. Enfermedades virales tipo mosaico del cultivo de la papa en el estado de Puebla. *Rev. Mex. de Fitopatología*. 7:1-6.
- Roberts, I. M. 1986. Practical aspects of handling, preparing and staining samples containing plant virus particles for electron microscopy. *In*: Jones, R.A.C. and L. Torrance (eds.). *Developments and applications in virus testing*. Association of Applied Biologists, Wellesbourne, Inglaterra. 312 p.
- Saiki, R. K., S.J. Scharf, F. Fabona, K.B. Mullis, G.T. Horn, H.A. Erlich and N. Arnheim. 1985. Enzymatic amplification of β -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230: 1350-1354.
- Saiki, R. K., D.H. Gelfand, S. Toffel, S.J. Scharf, R. Higuchi, G.T. Horn, K.B. Mullis and H.A. Erlich. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*. 239: 487-491.
- Salazar, L. F. y R.A.C. Jones. 1975. Some studies on the distribution and incidence of potato mop-top virus in Perú. *Am. Potato. J.* 52: 143-150.
- Salazar, L. F. 1977. Studies on three viruses form Soth American Potatoes. Ph. D. Thesis. University of Dundee, Escocia. 242 p.
- Salazar, L. F. and B.D. Harrison. 1977. Two previously undescribed potato viruses form South America. *Nature* 265: 337-338.

- Salazar, L. F. and B.D.Harrison. 1978a. The relationship of potato black ringspot virus to tabaco ringspot and allied viruses. *Ann. Appl. Biol.* 90: 387-394.
- Salazar, L.F. and B.D. Harrison. 1978b. Host range, purification and properties of potato virus T. *Ann. Appl. Biol.* 86: 373-380.
- Salazar, L.F., L. Schilde-Rentschler and R. Lizárraga. 1985. Elimination of potato spindle tuber viroid from potato by cold treatment and meristem culture. *In: Maramorosch, K. And J.J. Mckelvey, Jr. (eds.). Subviral pathogens of plants and animals: Viroids and prions.* Academic Press, Inc., Londres, Inglaterra. p. 137-150.
- Salazar, L. F., R. W. Hammond, T. O. Diener y R.A. Owens. 1988. Analysis of viroid replication following *Agrobacterium*-mediated inoculation of non-host species with potato spindle tuber viroid cDNA. *J. Gen. Virol.* 69: 879-889.
- Salazar, L. F. 1989. Potato spindle tuber. *In: Kahn, R.P. (ed.). Plant protection and quarantine. Vol. II. Selected pests and pathogens of quarantine significance.* CRC Press, Boca Raton, FL. E.U. p. 155-167.
- Salazar, L. F. 1995. Los virus de la papa y su control. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú. p. 226.
- Salazar, L. F., M. Querci, I. Bartolini and V. Lazarte. 1995. Aphid transmission of potato spindle tuber viroid assisted by potato leafroll virus. *Fitopatología* 30: 56-58.
- Sánchez - Vizcaíno, J.M. y M. Cambra. 1981. Técnicas inmunoenzimáticas en patología animal y vegetal. Min. Agric. Inst. Nac. Inv. Agrarias, Madrid, España. 57 p.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. NORMA Oficial Mexicana NOM-012-FITO-1996. p. 4-20.
- Smith, K.M. 1931. On the composite nature of certain potato virus diseases and selective methods of transmission. *Proc. R. Soc. Ser. B* 109: 251-266.
- Smith, K.M. 1972. A textbook of plant virus diseases. Third Edn., Longman group Ltd., London. 684 p.
- Telíz, O.D. y A.G. Mora. 1986. Inmunosorbencia con enzimas conjugadas. *Rev. Mex. Fitopatología* 4: 133-141.
- Torrance, L. and R.A.C. Jones. 1981. Recent development in serological methods suited for use in routine testing for plant viruses. *Plant Pathology.* 30: 1-24.
- Valenta, V., M. Musil and S. Misiga. 1961. Investigations on European yellows type Viruses. I. The stolbur virus. *Phytopathol. Z.* 42:1-38.

- Verdugo, G. F. 1989. Etiología de una nueva enfermedad del tomate en Sinaloa: supervivencia. Memoria del XVI Congreso Nacional del Fitopatología. Montecillo, Méx. P. 14.
- Voller, A., D.E. Bidwell, G. Hultdt and E. Engvall. 1974. A microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay and its application to malaria. Bull. Worl Health Org. 51: 209-211.
- Voller, A., D. E. Bidwell and A. Bartlett. 1976. Enzyme immunoassays in diagnostic medicine: Theory and practice. Bull. World Health Org. 53: 55-65.
- Wetter, C. 1971. Potato virus S. *In*: Descriptions of plant viruses. No.60. Commonw. Mycol. Inst., Assoc. Appl. Biol., Kew, Surrey, Inglaterra.

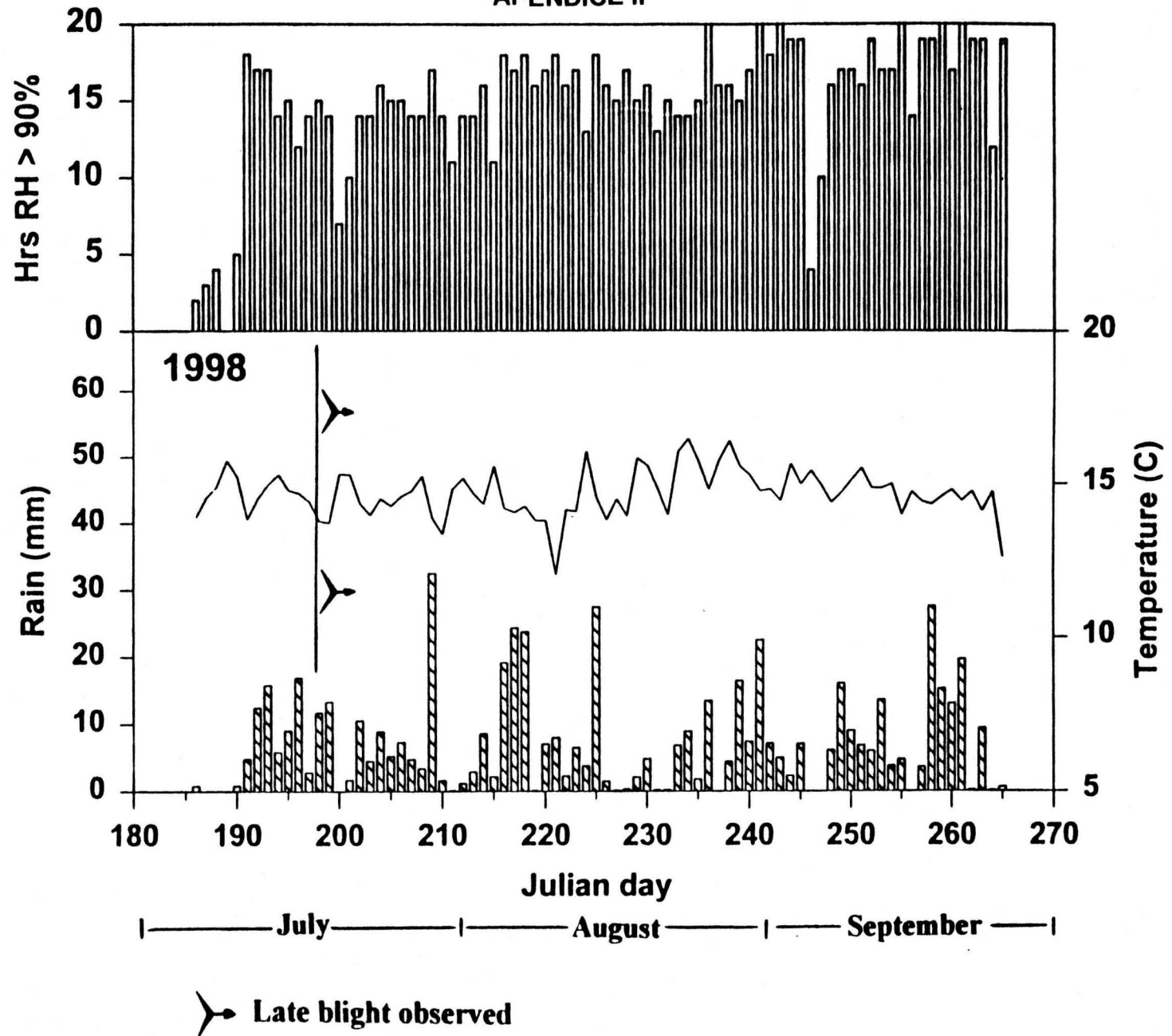
APÉNDICE I

Cuadro 1. Acrónimos y abreviaturas

14R	Tobamovirus no relacionado con TMV
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AIMV	Virus del mosaico de la alfalfa
APLV	Virus latente andino de la papa
APMV	Virus moteado andino de la papa
ARN	Ácido desoxirribonucleico
BCIP	5-bromo, 4-cloro, 3-indolil, sal de toluídina de fosfato
BCTV	Virus de la punta crespada de la betarraga
BSA	Albúmina de suero de bovino
CAN	Canadá
CIP	Centro Internacional de la Papa
CMV	Virus del mosaico del pepinillo
DAS-ELISA	ELISA-Sandwich de doble anticuerpo
DGSV	Dirección General de Sanidad Vegetal
ELISA	Ensayo de inmunoabsorción con conjugados enzimáticos
E.U.A.	Estados Unidos de América
h	hora
IgG	Inmunoglobulina G
ISEM	Microscopia electrónica de inmunoabsorción
NASH	Hibridación de ácidos nucleicos fijados
NBT	Azul nitrogenado de tetrazolio
NCM-ELISA	Elisa en membranas de nitrocelulosa
nm	nanómetro
ME	Microscopio electrónico
MEX	México
MF	Flavescencia marginal
mg	miligramo
min	minuto
mL	mililitro
mm	milímetro
msnm	metros sobre el nivel del mar
P/V	peso/volumen
PAMV	Virus del mosaico aucuba de la papa
PBRV	Virus de la mancha anillada negra de la papa
PBS	Buffer fosfato salino
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PDMV	Virus mosaico deformante de la papa
PICTIPAPA	Programa Internacional Cooperativo del Tizón Tardío de la Papa

PLRV	Virus del enrollamiento de la hoja de la papa
PMTV	Virus mop-top de la papa
PP	Filodia de la papa
PSTVd	Viroide del tubérculo fusiforme de la papa
PSV	Virus del achaparramiento de la papa
PTR	Enrollamiento púrpura del ápice
PTV	Virus peruano de la papa
PTW	Marchitez de la punta morada
PVA	Virus A de la papa
PVM	Virus M de la papa
PVP	Polivinilpirrolidona
PVS	Virus S de la papa
PVT	Virus T de la papa
PVV	Virus V de la papa
PVX	Virus X de la papa
PVY	Virus Y de la papa
PVY ^c	Virus Y de la papa, variante C
PVY ^N	Virus Y de la papa, variante N
PVY ^o	Virus Y de la papa, variante O
PYDV	Virus del enanismo amarillo de la papa
PYV	Virus del amarillamiento de la papa
PYVV	Virus de la vena amarilla de la papa
SALCV	Virus de la hoja apical crespada de <i>Solanum</i>
SB-23	Aislamiento del virus del mosaico de "Sowbane"
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TBS	Buffer tris salino
TMV	Virus mosaico del tabaco
ToBRV	Virus de la mancha anillada del tomate
ToSWV	Virus de la marchitez manchada del tomate
TRSV	Virus de la mancha anillada del tabaco
TRV	Virus cascabeleo del tabaco
TSV	Virus del estriado del tabaco
μl	microlitro
WB	Escoba de brujas
WPMV	Virus mosaico de la papa silvestre

APÉNDICE II



Cortesía del Dr. Niklaus Grunwald, CEEM/PICTIPAPA.

Figura 1. Condiciones meteorológicas durante el ciclo agrícola 1998.

APÉNDICE III

Cuadro 1. Muestras negativas para virus de diverso año de evaluación en el campo para resistencia al tizón tardío en el Valle de Toluca en 1998.

A. Clones de primer año

[illegible]

Muestra	Clon	Mejorador	Institución	%Infección foliar final	Rend. g/planta	PVX		PVY		PVS		PVM		PVA		PLRV		APLV		PAMV		Selección para el próximo año
						F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	
91	CRUZA	CH	WSU-USDA	5	1100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
92	95A2-8	CH	WSU-USDA	10		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
*95	G6582-3	CH	WSU-USDA	10	1280	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
98	84-34-2	CH	WSU-USDA	10	960	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
101	A96760-11	C	UI-USDA	20	1650	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
103	A96760-24	C	UI-USDA	30		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
104	A96760-26	C	UI-USDA	35	1050	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
105	A96760-36	C	UI-USDA	40	650	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
106	A96760-42	C	UI-USDA	35	1400	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
*107	A96761-2	C	UI-USDA	10	2500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
108	A96761-41	C	UI-USDA	30	850	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
*109	A96761-48	C	UI-USDA	35	950	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
110	A96761-49	C	UI-USDA	35	1250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
111	A96762-5	C	UI-USDA	25	1150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
112	A96762-7	C	UI-USDA	100		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
113	A96762-15	C	UI-USDA	10	1750	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
114	A96762-17	C	UI-USDA	20		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
115	A96762-26	C	UI-USDA	100		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
116	A96762-31	C	UI-USDA	30	1200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
117	A96762-32	C	UI-USDA	20	900	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
118	A96762-39	C	UI-USDA	42		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
119	A96762-47	C	UI-USDA	30		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
120	A96762-50	C	UI-USDA	35	2500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
121	A96763-1	C	UI-USDA	30	1700	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
122	A96763-2	C	UI-USDA	40	2050	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
127	A96763-20	C	UI-USDA	30		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
128	A96763.21	C	UI-USDA	40	2150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
130	A96763-22	C	UI-USDA	25	1850	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	✓
*133	A96764-19	C	UI-USDA	20	1150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
134	A96764-21	C	UI-USDA	20	2250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
135	A96764-26	C	UI-USDA	45		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
136	A96764-29	C	UI-USDA	30	1950	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
137	A96764-31	C	UI-USDA	30	750	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
138	A96764-33	C	UI-USDA	40	850	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
139	A96764-34	C	UI-USDA	30	750	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
140	A96764-35	C	UI-USDA	35		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	

Muestra	Clon	a Mejo rador	Institución	b %Infección foliar final	c Rend. g/planta	PVX		PVY		PVS		PVM		PVA		PLRV		APLV		PAMV		* Selección dos para el próximo año
						d F	d T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	
141	A96764-36	C	UI-USDA	30	1450	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
142	A96764-38	C	UI-USDA	35	2750	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
143	A96764-39	C	UI-USDA	20	1650	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
*145	A96764-45	C	UI-USDA	40		-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	
*147	A96765-4	C	UI-USDA	15		-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	
148	A96765-34	C	UI-USDA	15	1400	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
149	A96765-28	C	UI-USDA	30		-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	
150	A96765-32	C	UI-USDA	50	1000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
151	A96765-42	C	UI-USDA	50		-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	
152	A96765-45	C	UI-USDA	25	2750	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
153	A96766-3	C	UI-USDA	25	1750	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
154	A96766-5	C	UI-USDA	30	1450	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
155	A96766-17	C	UI-USDA	30	2200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
156	A96766-23	C	UI-USDA	30	2400	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
157	A96766-32	C	UI-USDA	40	1000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
158	A96766-40	C	UI-USDA	25		-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	
159	A96768-1	C	UI-USDA	40	1150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
*160	A96768-2	C	UI-USDA	40		-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	
161 ^e	A96768-15	C	UI-USDA	35		-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	
164	A96768-24	C	UI-USDA	100		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
165	A96768-31	C	UI-USDA	35	1150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
166	A96768-40	C	UI-USDA	40		-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	
167	A96768-46	C	UI-USDA	35	950	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
168	A96769-19	C	UI-USDA	30	1550	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
169	A96769-37	C	UI-USDA	25	800	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
*170	A96769-38	C	UI-USDA	25		-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	
171	A96769-45	C	UI-USDA	40	1300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
*172	A96770-16	C	UI-USDA	40		-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	
173	A96770-22	C	UI-USDA	35	800	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
174	A96770-24	C	UI-USDA	35	850	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
175	A96770-27	C	UI-USDA	40	1500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
176	A96770-28	C	UI-USDA	30		-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	
177	A96770-37	C	UI-USDA	35	500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
178	A96770-39	C	UI-USDA	35		-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	

Muestra	Clon	ª Mejo rador	Institución	ª %Infección foliar final	ª Rend. g/planta	PVX		PVY		PVS		PVM		PVA		PLRV		APLV		PAMV		ª Selección dos para el próximo año
						ª F	ª T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	
179	A96773-1	C	UI--USDA	40		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
180	A96773-12	C	UI-USDA	20		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
181	A96773-21	C	UI-USDA	40	1050	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
186	A96773-48	C	UI-USDA	35		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
187	A96773-49	C	UI-USDA	100	650	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
188	A96774-1	C	UI-USDA	40		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
189	A96774-3	C	UI-USDA	40		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
190	A96774-5	C	UI-USDA	40		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
191	A96774-11	C	UI-USDA	35	1750	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
192	A96774-13	C	UI-USDA	45		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
193	A96774-17	C	UI-USDA	30	650	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
194	A96774-23	C	UI-USDA	35		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
195	A96774-29	C	UI-USDA	35	1600	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
196	A96774-31	C	UI-USDA	20	1350	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
197	A96774-32	C	UI-USDA	50	450	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
198	A96774-35	C	UI-USDA	50		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
199	A96774-40	C	UI-USDA	50	800	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
200	A96775-6	C	UI-USDA	40	1800	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
201	A96775-14	C	UI-USDA	50	1250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
202	A96775-17	C	UI-USDA	40		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
203	A96775-31	C	UI-USDA	35		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
204	A96775-40	C	UI-USDA	100		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
205	A96775-43	C	UI-USDA	50		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
206	A96775-44	C	UI-USDA	40	1000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
207	A96776-2	C	UI-USDA	45		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
208	A96776-19	C	UI-USDA	40		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
*209	A96776-20	C	UI-USDA	50	1300	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	✓
210	A96776-21	C	UI-USDA	40		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
211	A96776-32	C	UI-USDA	25		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
212	A96777-8	C	UI-USDA	60	1050	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
213	A96777-9	C	UI-USDA	35		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
214	A96777-14	C	UI-USDA	30	1950	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
215	A96777-18	C	UI-USDA	35	1700	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
217	A96777-25	C	UI-USDA	45		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
220	A96778-15	C	UI-USDA	50		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	

Muestra	Clon	Mejorador	Institución	%Infección foliar final	Rend. g/planta	PVX		PVY		PVS		PVM		PVA		PLRV		APLV		PAMV		Selección dos para el próximo año
						F	F	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	
221	A96778-22	C	UI-USDA	40	1900	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
222	A96778-23	C	UI-USDA	40		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
223	A96778-27	C	UI-USDA	40	1850	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	✓
224	A96778-29	C	UI-USDA	40		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
225	A96778-32	C	UI-USDA	40	2050	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
226	A96778-34	C	UI-USDA	25	1000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
227	A96778-37	C	UI-USDA	50		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
228	A96778-38	C	UI-USDA	80		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
229	A96778-39	C	UI-USDA	50		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
230	A96778-44	C	UI-USDA	50	1500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
231	A96779-1	C	UI-USDA	40		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
232	A96779-4	C	UI-USDA	40		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
235	A96779-12	C	UI-USDA	50		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
236	A96779-16	C	UI-USDA	50	850	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
237	A96779-17	C	UI-USDA	50		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
238	A96779-25	C	UI-USDA	50	1150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
239	A96779-34	C	UI-USDA	50	1200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
240	A96779-36	C	UI-USDA	60	1050	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
241	A96779-37	C	UI-USDA	55		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
242	A96779-38	C	UI-USDA	40	1700	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
243	A96779-39	C	UI-USDA	40	1050	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
*244	A96779-43	C	UI-USDA	50		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
245	A96779-45	C	UI-USDA	40	650	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	✓
246	A96779-48	C	UI-USDA	40		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
247	A96779-50	C	UI-USDA	35	500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
248	A96780-7	C	UI-USDA	40		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
249	A9678011	C	UI-USDA	65		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
250	A96780-17	C	UI-USDA	40		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
251	A96780-27	C	UI-USDA	40		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
252	A96780-41	C	UI-USDA	40		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
253	A96780-45	C	UI-USDA	40		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
254	A96781-14	C	UI-USDA	50		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
256	A96781-17	C	UI-USDA			-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
*257	A96781-31	C	UI-USDA	60		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
258	A96781-15	C	UI-USDA			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Muestra	Clon	a Mejo rador	Institución	b %Infección foliar final	c Rend. g/planta	PVX		PVY		PVS		PVM		PVA		PLRV		APLV		PAMV		e Selección dos para el próximo año
						dF	dT	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	
*262	A96783-2	C	UI-USDA	55		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
263	A96781-7	C	UI-USDA	40	1300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
264	A96781-10	C	UI-USDA	50	750	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
265	A96781-17	C	UI-USDA	40		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
266	A96781-25	C	UI-USDA	100	1600	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
267	A96781-52	C	UI-USDA	60		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
268	A96781-61	C	UI-USDA	60	1500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
269	A96781-65	C	UI-USDA	40		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
270	A96781-69	C	UI-USDA	60		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
271	A96825-7	C	UI-USDA	100	1200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
273	A96825-41	C	UI-USDA	20	800	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
274	A96825-44	C	UI-USDA	40	1900	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
275	A96825-46	C	UI-USDA	15	2100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
*276	A96825-48	C	UI-USDA	100	550	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	✓
277	A96825-51	C	UI-USDA	35		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
278	A96825-56	C	UI-USDA	30	1500	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	✓
*279	A98825-61	C	UI-USDA	35		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
280	A96825-65	C	UI-USDA	30	600	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	✓
281	A96832-47	C	UI-USDA	40	1200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
282	A96834-35	C	UI-USDA	30	800	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	✓
283	A96834-71	C	UI-USDA	40	800	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	✓
284	A96859-37	C	UI-USDA	20		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
285	A96859-39	C	UI-USDA	30		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
287	A96859-42	C	UI-USDA			x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	
288	A96859-45	C	UI-USDA	40	850	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
289	A96859-50	C	UI-USDA	10		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
290	A96859-22	C	UI-USDA	20	750	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
291	A96853-28	C	UI-USDA	15	1250	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	✓
292	A96853-33	C	UI-USDA	20	1000	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	✓
293	A96853-45	C	UI-USDA	15	1450	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	✓
294	A96861-6	C	UI-USDA	35	700	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
297	A96860-22	C	UI-USDA	10	1900	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	✓
298	A96860-23	C	UI-USDA	10	1400	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	✓
299	A96868-2	C	UI-USDA	30	1300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
301	A96868-17	C	UI-USDA	20		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	

Muestra	Clon	Mejorador	Institución	b %Infección foliar final	c Rend. g/planta	PVX		PVY		PVS		PVM		PVA		PLRV		APLV		PAMV		* Selección dos para el próximo año
						dF	dT	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	
*303	A96907-1	C	UI-USDA	20		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
304	A96870-7	C	UI-USDA	40		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
307	A96861-48	C	UI-USDA	20		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
308	A96861-47	C	UI-USDA	20		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
310	A96861-14	C	UI-USDA	10	250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
311	A96861-15	C	UI-USDA	25	800	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	✓
312	A96861-28	C	UI-USDA	10	650	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	✓
313	A96861-13	C	UI-USDA	15	1500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
*314	A96861-10	C	UI-USDA	15	1100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
316	A96861-7	C	UI-USDA	15	650	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
317	A96861-8	C	UI-USDA	10		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
318	A96861-35	C	UI-USDA	5	1200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
*322	A96871-11	C	UI-USDA	10		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
324	A96870-29	C	UI-USDA	30	450	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	✓
325	A96871-7	C	UI-USDA	10	700	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
326	A96871-6	C	UI-USDA	30		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
327	A96919-7	C	UI-USDA	20	2400	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
333	A96871-43	C	UI-USDA	30	1000	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	✓
334	A96871-44	C	UI-USDA	30	1000	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	✓
335	A96871-22	C	UI-USDA	20	900	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
336	A96872-2	C	UI-USDA	50	1500	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	✓
337	A96864-31	C	UI-USDA			-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
338	A96865-7	C	UI-USDA	30	1100	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	✓
339	A96864-46	C	UI-USDA	20		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
*340	A96864-27	C	UI-USDA	40		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
341	A96858-14	C	UI-USDA	100		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
342	A96858-17	C	UI-USDA	20	1600	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	✓
346	A96858-31	C	UI-USDA	30	1150	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	✓
347	A96858-32	C	UI-USDA	20		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
348	A96859-11	C	UI-USDA	15	1000	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	✓
349	A96859-12	C	UI-USDA	15	2300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
350	A96859-16	C	UI-USDA	10	1800	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	✓
352	LOZOYA-2	L	U.A.Ch.	1S		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
353	LOZOYA-3	L	U.A.Ch.	1S		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
354	LOZOYA-4	L	U.A.Ch.	1S		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓

[illegible]

B. Clones de segundo año

[illegible]

Muestra	Clon	^a Mejo rador	Institución	^b %Infección foliar final	^c Rend. g/planta	PVX		PVY		PVS		PVM		PVA		PLRV		APLV		PAMV		^e Selecciona dos para el próximo año
						^d F	^d T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	
*70	M. Gigantho Phylum	B	UW-USDA	10		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	
71	M. Gigantho Phylum	B	UW-USDA	10		-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	

C. Clones de tercer año

Muestra	Clon	^a Mejo rador	Institución	^b %Infección foliar final	^c Rend. g/planta	PVX		PVY		PVS		PVM		PVA		PLRV		APLV		PAMV		^e Selecciona dos para el próximo año
						^d F	^d T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	
*34	A9553-24	C	UI-USDA			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
35	A9521-53	C	UI-USDA	25	375	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓

D. Clones de cuarto año

Muestra	Clon	^a Mejo rador	Institución	^b %Infección foliar final	^c Rend. g/planta	PVX		PVY		PVS		PVM		PVA		PLRV		APLV		PAMV		^e Selecciona dos para el próximo año
						^d F	^d T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	
4	J101K6	H	UW-USDA	^f S		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
5	J138A12	H	UW-USDA	^f S		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
6	COO8308	H	UW-USDA	^f S		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓

*Con síntomas al momento del muestreo

^aH: J.P. Helgeson, B: J. Bamberg, W: W.Flier, CH: C. Brown, C: D. Corsini, L: H.Lozoya, E: E. Zimnoch.

^bÚltima lectura semanal a los 90 días de la siembra.

^{b,c} Datos proporcionados por el Ing. Alejandro Hernández Vilchis (PICTIPAPA, A.C.).

^dF: Follaje, T: Tubérculo - : muestra negativa

^e✓: Seleccionado para evaluación de resistencia al tizón tardío para 1999.

^fS: Materiales con aspersión de fungicidas al follaje, ya sea por susceptibilidad al tizón tardío o para optimizar rendimiento de tubérculo para semilla.

X: No hubo muestra de tubérculo o follaje.

