Efecto de la infección de PVX y PVY en la producción de Solanum tuberosum en invernadero con los cultivares Floresta y Granola

V. Vásquez¹ M. Montero-Astúa¹ C. Rivera^{1,2}

RESUMEN. Se realizaron dos ensayos en invernadero para medir el efecto de la infección de PVY y PVX en las variedades cultivadas de papa Floresta y Granola, comúnmente sembradas en Costa Rica. Se sembraron vitroplantas libres de virus, de ambas variedades, en invernadero. Se inocularon 54 plantas de cada variedad con inóculo de PVX mantenido en *Nicotiana glutinosa*, y 35 plantas de cada variedad con inóculo de PVY mantenido en *Nicotiana tabaccum*. En el momento de la cosecha se evaluó el número y el peso de los tubérculos obtenidos por maceta de las plantas inoculadas y de las sanas (control). Las plantas sanas de la variedad Floresta produjeron tres veces más tubérculos y de mayor peso que las de Granola. El cultivar Floresta fue más susceptible a la infección con PVX, que redujo el rendimiento en un 26%. No se demostró efecto de la infección con PVY en ninguna de las variedades. Los síntomas fueron más severos en las plantas de Floresta que en las de Granola, para la infección con ambos virus.

Palabras clave: papa, potexvirus, potyvirus, rendimiento, virus.

ABSTRACT. PVX and PVY effect on *Solanum tuberosum* greenhouse yield of the cultivars Floresta and Granola. Two greenhouse experiments were conducted to evaluate the effect of PVY and PVX on the yield of two potato varieties commonly grown in Costa Rica: Floresta and Granola. Virus-free *in vitro* plants of both varieties were planted in pots in the greenhouse. Fifty-four plants of each variety were inoculated with PVX maintained in *Nicotiana glutinosa* and 35 plants of each variety were inoculated with PVY maintained in *Nicotiana tabaccum*. The number and weight of the tubers obtained from inoculated and healthy control plants were recorded. Healthy Floresta plants produced three times more tubers of greater weight than the healthy control plants of the Granola variety. Yields of Floresta plants infected with PVX were 26% lower than in healthy controls. Yields were not affected by PVY infection in either one of the varieties. Symptoms of both viruses were more severe in Floresta than in Granola.

Key words: Potato, potexvirus, potyvirus, virus, yields.

Introducción

Las enfermedades virales afectan de distintas formas los cultivos, y su efecto depende de la severidad del virus, el estado fisiológico y la variedad de la planta que infecten, entre otros aspectos. En general, la literatura indica que entre los virus que causan mayores efectos negativos en el rendimiento de la papa se encuentran el potato virus Y, potyvirus (PVY) y el potato virus X, potexvirus (PVX) (Salazar 1995).

Las pérdidas producidas por PVY se manifiestan tanto en el rendimiento como en la calidad de los tubérculos. Estas pérdidas pueden variar del 10 al 80%, dependiendo del cultivar (Salazar 1982). El PVX puede causar pérdidas significativas, dependiendo del cultivar: se han informado disminuciones en el rendimiento que van desde un 5 hasta un 75% (Salazar 1982). Cuando estos virus se presentan en infección mixta causan el mosaico rugoso, cuyos síntomas son

¹ Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

² Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. viviana@cariari.ucr.ac.cr y crivera@racsa.co.cr

más severos y las pérdidas económicas pueden ser mucho más graves que en infecciones simples de PVY o de PVX (Stevenson 2001). En Costa Rica, Hord y Rivera (1998) informaron, para la zona norte de Cartago, una alta incidencia de PVX (92%) y de PVY (56%).

Las variedades cultivadas de papa más utilizadas en Costa Rica son Floresta y Granola. Para ninguno de estos cultivares se cuenta con estudios que cuantifiquen las pérdidas en la producción causadas por las infecciones virales. Debido a las altas tasas de infección por PVX y PVY que se han informado para Costa Rica y a la importancia de estos virus en la disminución en el rendimiento, se plantea la necesidad de evaluar su efecto en estos cultivares.

El objetivo de este estudio fue aportar datos cuantitativos sobre el efecto del PVX y el PVY en la producción de plantas de los cultivares Floresta y Granola, en condiciones de invernadero. Se compararon, además, las diferencias en rendimiento entre las dos variedades sanas.

Materiales y métodos

Se realizaron dos experimentos en invernadero; el primero en los meses de agosto a diciembre, donde se evaluó el efecto del PVX en las variedades cultivadas Floresta y Granola; el segundo experimento tuvo lugar en los meses de diciembre a abril, donde se evaluó el efecto de PVY en ambas variedades. Los ensayos se llevaron acabo en un invernadero con malla antiáfidos, pero sin condiciones controladas. Se utilizaron plantas in vitro, libres de virus, de las variedades cultivadas Floresta y Granola, mantenidas y multiplicadas por el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto Tecnológico de Costa Rica. El cultivar Floresta provino del Centro Internacional de la Papa (CIP) y el cultivar Granola fue mejorado en Alemania.

Para la aclimatización y el crecimiento en invernadero se utilizó la metodología de Flores *et al.* (2002). Se trasplantaron 120 vitroplantas de cada variedad a macetas de 3 L, dos plantas por maceta, con suelo estéril como sustrato. Cinco semanas después, se inocularon mecánicamente con los virus indicados. Posteriormente, cuando las plantas cumplieron 14 semanas de estar en el invernadero, se eliminó el riego. Dos semanas más tarde, se les eliminó el follaje y una semana después se realizó la cosecha. Con ambas variedades se siguió la misma metología, con la excepción de la cosecha, la cual se realizó cuatro semanas

antes para el cultivar Granola, debido a que tiene un ciclo más corto.

Como fuentes de inóculo se utilizaron un aislamiento de PVX, mantenido en invernadero en plantas de *Nicotiana glutinosa*, y un aislamiento de PVY, mantenido en invernadero en plantas de *Nicotiana tabacum*. El material se maceró en el invernadero para la inoculación, a una dilución de 1:2 en solución amortiguadora de fosfato de sodio 10mM, pH 7. Se utilizó carborudum como abrasivo y el inóculo se frotó con un aplicador sobre las hojas de las plantas. Se inocularon en total tres hojas por planta: dos jóvenes, localizadas en la parte superior, y una madura, en la parte media de la planta. Después de la inoculación la superficie de las hojas se lavó con agua destilada.

La efectividad de la inoculación se comprobó tres semanas después de la misma, mediante la prueba de DAS-ELISA. Se utilizaron anticuerpos y conjugados comerciales de la casa AGDIA (Elkhart, Indiana, US). Las lecturas de absorbancia se realizaron en un lector de ELISA Dynex MRX, a 460 nm, 120 minutos después de agregar el sustrato. Las muestras se consideraron positivas cuando la absorbancia fue mayor a la media de los controles negativos (n = 4), más tres veces la desviación estándar.

Al cumplir las plantas de Granola tres meses en el invernadero y las de Floresta cuatro meses, se cosecharon los tubérculos producidos por maceta, separando los sanos de los infectados. Posteriormente los tubérculos se clasificaron, según su peso, en seis categorías: categoría 1) de 60 a 110 g; 2) de 35 a 59 g; 3) de 15 a 34 g; 4) de 8 a 14 g; 5) de 2 a 7 g, y 6) tubérculos con pesos menores de 2 g. Se tomó además el peso individual de los tubérculos y el peso total de cada categoría y se consideraron malformaciones o defectos cosméticos de los tubérculos. Los datos de la cosecha se analizaron con la prueba de T, promedios, medias y desviaciones estándar, utilizando el programa STA-TISTICA (versión 6.0 StatSoft).

Resultados

En el primer experimento —donde se evaluó la infección con PVX— se perdieron tres plantas de Granola y cinco de Floresta durante el proceso de aclimatación. De las 54 plantas de la variedad Granola y las 54 de la variedad Floresta inoculadas con el PVX, se detectaron infectadas con el virus 40 plantas de Granola (74% de las inoculadas) y 54 de Floresta (100% de las inoculadas).

En total, se cosecharon 100 plantas de Granola, 40 infectadas (20 macetas) y 60 sanas (30 macetas). El número promedio de tubérculos sanos control por maceta fue de 4,3 y el número promedio por maceta infectada fue de 3,8 tubérculos (T =0,23). El peso promedio de los tubérculos para las macetas sanas fue de 7,033 g y para las macetas infectadas de 7,018 g (T =0,98; Cuadro 1). Al comparar las plantas sanas con las infectadas, ni el número de tubérculos ni el peso fueron estadísticamente significativos (T >0,05).

Cuadro 1. Tubérculos sanos y tubérculos infectados con PVX del cultivar Granola producido en invernadero.

Categoría	Sanos		Infectados	
por peso (g)	Número	Peso promedio (g)	Número	Peso promedio (g)
60-110	0	_	_	_
35-59	0	_	_	_
15-34	20	17	9	15
8-14	40	8	21	8,5
2-7	56	3,3	31	3
< 2	27	< 2	20	< 2

De la variedad Floresta se cosecharon en total 108 plantas, 54 sanas (27 macetas) y 54 infectadas (27 macetas). El número promedio de tubérculos cosechados de las plantas sanas por maceta fue de 12, y el promedio por maceta infectada fue de 9,6 tubérculos (Cuadro 2). La diferencia en el número de tubérculos producidos por planta sana o infectada no fue significativo (T =0,072). El peso sí presentó diferencias significativas entre tubérculos sanos y tubérculos infectados (T =0,016; Fig. 1). El peso promedio por maceta de los tubérculos sanos cosechados fue de 173 g y el peso promedio por maceta de tubérculos infectados fue de 127 g (Cuadro 2). La diferencia en el peso de los tubérculos fue de un 26%.

En promedio, una maceta con dos plantas sanas de Granola produjo 4,3 tubérculos, y una maceta con dos plantas sanas de Floresta produjo en promedio 12 tubérculos (T = 0.001).

Para la evaluación de la infección con PVY (segundo experimento), en todo el proceso de aclimatación se perdieron 25 plantas de Granola y 15 plantas de Floresta. De las 35 plantas de Granola y 35 de Floresta inoculadas con PVY, solamente 25 plantas de Granola (71% de las inoculadas) y 35 de Floresta (100% de las inoculadas) fueron posteriormente detectadas como infectadas por este virus.

Cuadro 2. Tubérculos sanos y tubérculos infectados con PVX del cultivar Floresta producido en invernadero.

Categoría	Sanos		Infectados	
por peso (g)	Número	Peso promedio (g)	Número	Peso promedio (g)
60-110	8	81	2	62
35-59	43	38	28	40
15-34	80	18	82	18
8-14	63	8,5	47	8,5
2-7	52	3,3	43	3,5
< 2	66	< 2	55	< 2

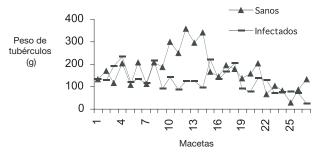


Figura 1. Relación entre el peso de los tubérculos de plantas sanas y el peso de los tubérculos de plantas infectadas con PVX, de la variedad Floresta.

En total se cosecharon 60 plantas de Granola: 22 infectadas (11 macetas) y 30 sanas (15 macetas). El número promedio de tubérculos control sanos por maceta fue de 9,6 y con plantas infectadas fue de 9,4 tubérculos (T =0,69). El promedio del peso de los tubérculos con plantas sanas fue de 35,2 g y con plantas infectadas de 34 g (T =0,78; Cuadro 3). Ni el número de tubérculos ni su peso fueron estadísticamente significativos.

Se cosecharon 30 plantas sanas de la variedad Floresta (15 macetas) y 22 plantas infectadas (11 macetas) (murieron 13 plantas). El número promedio de

Cuadro 3. Tubérculos sanos y tubérculos infectados con PVY del cultivar Granola producido en invernadero.

Categoría	Sanos		Infectados	
por peso (g)	Número	Peso promedio (g)	Número	Peso promedio (g)
60-110	0	_	_	_
35-59	0	_	_	_
15-34	7	13	4	18
8-14	40	8,5	17	8,7
2-7	91	4	40	3,8
< 2	49	< 2	28	< 2

tubérculos cosechados por maceta de plantas sanas control fue de 16,1 y de plantas infectadas fue de 13. La diferencia en el número de tubérculos producidos por maceta sana e infectada no fue significativa (T=0,73). El peso promedio por maceta de tubérculos cosechados sanos fue de 279 g, y el de tubérculos infectados fue de 239 g. El peso de tubérculos sanos y tubérculos infectados no presentó diferencias significativas (T=0,63; Cuadro 4). La infección con el virus PVY en la variedad Floresta no presentó diferencias significativas entre las plantas sanas y las plantas infectadas.

Cuadro 4. Tubérculos sanos y tubérculos infectados con PVY del cultivar Floresta producido en invernadero.

Categoría	Sanos		Infectados	
por peso (g)	Número	Peso promedio (g)	Número	Peso promedio (g)
60-110	9	79	6	79,8
35-59	53	41,5	24	43,2
15-34	73	18,8	51	17,8
8-14	76	8,0	37	8,6
2-7	74	3,4	35	3,2
< 2	66	< 2	14	< 2

Se obtuvo una diferencia significativa entre la producción de las plantas sanas de los cultivares Granola y Floresta (Fig. 2). Las plantas sanas de Floresta produjeron 44% más tubérculos que las de las sanas de la variedad Granola. Con relación al peso de los tubérculos, las plantas de Floresta superaron en un 87% a las plantas de Granola.

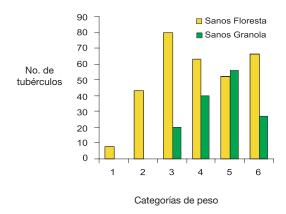


Figura 2. Producción de tubérculos de plantas sanas de las variedades Floresta y Granola clasificadas por categorías de peso.

En los experimentos de inoculación con PVX y PVY, la efectividad de la infección fue más alta en las plantas de Floresta que en las plantas de Granola. La mortalidad en el período de aclimatación y en el período de pos-inoculación fue mayor en las plantas de Granola que en las de Floresta. Las plantas de Granola no presentaron diferencias significativas ante la infección con PVX o con PVY, mientras que las plantas de Floresta presentaron diferencias con la infección de PVX.

En ambas variedades se observaron mosaicos y moteados. La variedad Floresta presentó una sintomatología más severa al inocularse con PVX y PVY que la variedad Granola. La variedad Floresta presentó un mosaico 15 días después de la inoculación con PVX, síntoma que llegó a ser severo a los 45 días (Fig. 3). Esta variedad mostró un moteado 15 días después de ser inoculada con PVY, que se tornó más severo a los 45 días de inoculación con el virus (Fig. 4). La variedad Granola presentó clorosis 15 días después de inoculada con PVX, que se incrementó levemente en los siguientes días (Fig. 5). Con el virus PVY se produjo una clorosis similar a la observada con PVX, que se mantuvo en un nivel leve durante los siguientes meses y hasta la cosecha (Fig. 6).

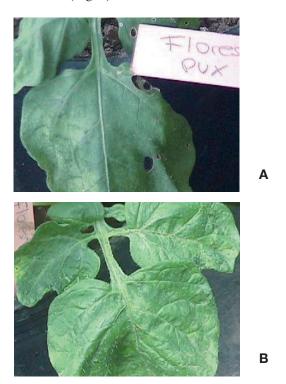


Figura 3. Síntomas producidos por la infección con PVX en plantas de la variedad Floresta. A. Quince días después de la inoculación con PVX se observa mosaico, principalmente en la hoja inoculada. B. Mosaico severo observado al mes y medio después de la inoculación, generalizado para toda la planta.

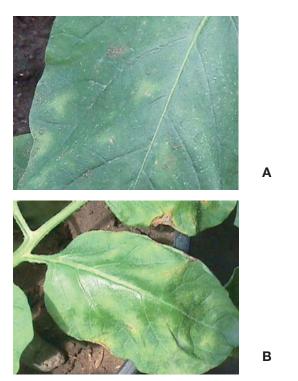


Figura 4. Síntomas de la infección con PVY en plantas de la variedad Floresta. A. Clorosis producida por la infección, 15 días después de la inoculación. B. Moteado severo que se observa en la mayoría de las hojas de la planta, mes y medio después de la inoculación.

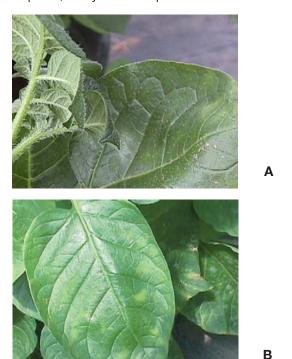


Figura 5. Síntomas producidos por la infección con PVX en plantas de la variedad Granola. A. Puntos cloróticos leves, principalmente en la hoja inoculada. B. Zonas cloróticas más severas en varias hojas de la planta inoculada.

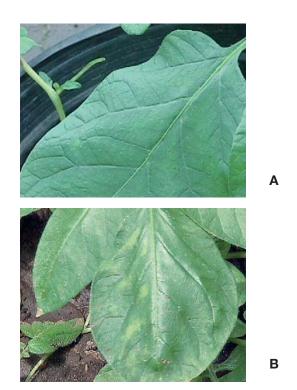


Figura 6. Síntomas de la infección con PVY en plantas de la variedad Granola. A. Quince días después de la inoculación se observa un leve moteado en la hoja inoculada. B. Al mes y medio de inoculada, se observan manchas cloróticas en varias hojas de la planta, síntomas que se mantienen.

Discusión

La metodología utilizada para el proceso de aclimatización funcionó mejor en el experimento realizado en los meses de agosto a diciembre que en el de los meses de diciembre a abril. Esta diferencia se atribuye principalmente a las temperaturas en los meses en que se realizó cada uno de los ensayos. El primer ensayo se realizó en la época lluviosa, cuando las temperaturas en el invernadero se mantuvieron en el día entre 18 y 23 °C. En el segundo experimento las temperaturas fueron más variables, entre 18 y 26 °C. En estos meses la humedad relativa es más baja, lo cual provocó un estrés mayor en las plantas, por lo que se produjo una mayor mortalidad.

La efectividad en la inoculación fue del 100% en las plantas de Floresta y alrededor del 70% en las plantas de Granola, para ambos virus. Aunque los virus PVX y PVY son fácilmente transmitidos por inoculación mecánica (McDonald y Singh 1996, Stevenson 2001), se ha comprobado que, algunas veces, la infección primaria por PVY puede no ser detectada por ELISA, aunque hay estudios que indican que una in-

fección secundaria es confirmada en el 100% de los casos por este método (Mihovilovich et al. 1998). Debido a que la inoculación en Floresta se detectó en el 100% de las plantas para ambos virus, podemos asumir que el método de ELISA fue muy eficiente en evaluar la infección. Además, el cultivar Floresta presenta una mayor susceptibilidad a ambos virus que el Granola, debido a la resistencia que presenta este último a los virus PVX y PVY (Bundessortenamt 1999).

Además de infectarse con mayor facilidad que el Granola, el cultivar Floresta fue el único afectado por PVX en el rendimiento (Fig. 1). Para la infección primaria con PVX se registran pérdidas desde el 0,2 hasta el 70%, dependiendo de la variedad (Salazar 1982, 1995). Otros autores especifican que las pérdidas por este virus oscilan entre 10 y 50%, dependiendo del cultivar (Singh y Kuraha 1993). Singh *et al.* (1994) informaron pérdidas en el campo de entre 11 y 17% en el primer año, y de 29 a 36% en el tercer año, para variedades en la India. En el caso de Floresta, se tuvieron pérdidas del 26% en una infección primaria, en invernadero. Si se compara con los datos para otras variedades, se puede sugerir que esta variedad es muy susceptible al PVX.

En ninguna de las variedades se comprobaron pérdidas con PVY; esto puede deberse a que este virus ataca mayormente cuando los tubérculos se siembran infectados. Las pérdidas en el campo por semilla infectada en la segunda o tercera siembra con PVY varían entre 60 y 100%, dependiendo del cultivar. Las pérdidas pueden ser mayores en climas que provocan mayor estrés por escasez de agua o temperaturas altas (Rybost et al. 1999). En plantas infectadas en el campo, las pérdidas varían entre el 10 y el 30% en cultivares altamente susceptibles (Mondjana et al. 1993). Se podría sugerir que el cultivar Floresta no presenta una alta susceptibilidad ante la infección primaria con PVY, y para la variedad Granola esto se confirma debido a la tolerancia a PVY que posee (Bundessortenamt 1999).

Al observar los síntomas producidos por estos virus, se nota que la variedad Floresta es más susceptible, principalmente al PVX (Figs. 3 y 5) y, probablemente, el daño en el follaje incide directamente en el efecto en la producción (Salazar 1995).

La variedad Floresta produjo mayor cantidad de tubérculos y de mayor peso que la variedad Granola (Fig. 2). Esto concuerda con los estudios realizados por Amador (1997), donde se comprueba la alta productividad de las plantas de la variedad Floresta. Por otro lado, para la variedad Granola se informa que es una papa de mesa de muy buen sabor, pero no se tienen informes de una alta productividad (Solana 2002/2003).

La variedad Floresta se cosechó cuatro semanas después que la variedad Granola debido a que la primera es de ciclo intermedio (Amador 1997) y la segunda de ciclo medianamente temprano (Bundessortenamt 1999). Es importante tomar en cuenta la duración del ciclo a la hora de elegir el cultivar, además de su tolerancia a los virus, el rendimiento esperado y la comercialización en el mercado, entre otros factores.

Se concluye que la variedad Floresta produjo en promedio un 44% más de tubérculos y de mayor tamaño que la variedad Granola; sin embargo, también fue más susceptible a la infección viral con PVX, que disminuye hasta en un 26% su rendimiento, mientras que la variedad Granola presenta tolerancia a esta infección. No se debe perder de vista que este estudio se realizó en condiciones de invernadero y para una infección primaria, por lo que la infección con estos virus podría ser más severa en condiciones de campo y en infecciones secundarias o terciarias.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONICIT), el Ministerio de Ciencia y Tecnología (MICIT) y la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica. Los autores agradecen a la Estación Experimental Fabio Baudrit, Subestación Fraijanes, y al Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica (CIA) por facilitarnos el invernadero donde se realizaron los experimentos, y al Centro de Biotecnología del Instituto tecnológico de Costa Rica por proporcionarnos las vitroplantas del experimento.

Literatura citada

Amador, R. 1997. Estudio fenológico de densidades de siembra y de extracción de nutrientes en cuatro variedades de papa *Solanum tuberosum. In* Consumo de papa en Costa Rica. Cartago, CR, Coopebaires-Ministerio de Agricultura y Ganadería. 35 p.

Bundessortenamt. 1999. Beschreibende Sartenliste: Kartoffeln. Alemania. p.106.

Flores, D; Barboza, S; Orozco, R. 2002. Guía para la producción de semilla prebásica y básica de papa en Costa Rica. San José, CR, EUNED. 31 p.

Hord, M; Rivera, C. 1998. Prevalencia y distribución geográfica de los virus PVX, PVY, PVA, PVM, PVS, y PLRV en el cultivo de la papa en la zona norte de Cartago, Costa Rica. Agronomía Costarricense 22:137-143.

- Donald, JG; Singh, RP. 1996. Host range symptomatology and serology of isolotes of potato virus Y that share properties with both the PVYⁿ and PVY^o strain groups. American Potato Journal 76:309-315.
- Mihovilovich, E; Salazar LF; Saguma, F; Bonierbale, MW. 1998. Survey of the durability of extreme resistance to PVY derived from *Solanum tuberosum* subesp. *andigena*. Lima, PE, CIP (Centro Internacional de la Papa) program report. p. 123-128
- Mondjana, AM; Rouse, DI; German, TL. 1993. The impact of PVY on potato yield and severity of early dying. Annual Potato Journal 70:829.
- Rybost, KA; Hane, DC; Hamn, PB; Voss, R; Kirby, D. 1999. Effects o seedborne potato virus Y on Russet Norkotah performance. American Journal of potato Research 75:91-96.

- Salazar, LF. 1982. Manual de enfermedades virosas de la papa. Lima, PE, CIP (Centro Internacional de la Papa). 111 p.
- _____. 1995. Los virus de la papa y su control. Lima, PE, CIP (Centro Internacional de la Papa). 226 p.
- Singh RA; Khurana, P. 1993. Viral and allied disease of potato. Advances in horticulture Vol. 7. 491-528.
- Singh, S; Kumar, S; Khurana, SMP. 1994. Incidence and relative concentration of common potato virus in five cultivars. Indian Journal of Virology 10: 44-50.
- Solana. 2002/2003. Quality seed potatoes. Manual de variedades de papa. Hamburg, Germany.
- Stevenson W. ed. 2001. Compendium of potato disease. St. Paul, MN, US, American Phytopathological Society. p. 57-72.