

Identificación de enfermedades virales en papa (*Solanum tuberosum* L.) e importancia de algunos factores para su manejo en el sur de Sonora

Jesús Antonio Cantúa Ayala¹
Pedro Figueroa López²
Francisco José Rivas Santoyo³

RESUMEN

En el sur de Sonora se siembra un amplio rango de variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) con heterogeneidad en cuanto a su respuesta a enfermedades virales y manejo. De acuerdo a la metodología planteada y sus resultados, se identificaron los Virus Y de la Papa (PVY), Virus Y de la Papa variante Necrosis de la Nervadura del Tabaco (PVYN), Virus Jaspeado del Tabaco (TEV) y se confirmó la presencia del Virus Y de la Papa variante Necrosis del Tubérculo de Papa (PVYNTN). Los resultados obtenidos del análisis de conteos (no paramétrico) con la prueba de ji cuadrada (X²) para la determinación de virosis entre localidades, evidencian la importancia de utilizar material propagativo sano, para disminuir la frecuencia de infección de enfermedades virales en papa en el sur de Sonora.

Palabras clave: papa, virus fitopatógenos, PVYN, TEV, PLRV, CMV.

ABSTRACT

A wide range of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars are cultivated in southern Sonora. These cultivars show heterogeneity in their response to management and viral diseases. According to the proposed methodology and results, the following viruses were identified: Potato Virus Y (PVY), Potato Virus Y Tobacco Veinal Necrosis variant (PVYN), Tobacco Mottle Virus (TEV), and the presence of Potato Virus Y variant of Potato Tuber Necrosis (PVYNTN) was confirmed. The results obtained from counting analysis (nonparametric), with chi-square (X²) for determination of viral diseases between localities, showed the importance of using healthy propagative material

¹ Ingeniero Agrónomo. Investigador Asociado "C" del Campo Experimental Norman Ernest Borlaug (antes Campo Experimental Valle del Yaqui), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Calle Dr. Norman E. Borlaug Km 12, Ciudad Obregón, Sonora, México, C.P. 85000. Tel. (644) 414 57 00. Correo electrónico: cantua.jesus@inifap.gob.mx

² Doctor en Ciencias. Investigador Titular "C" del Campo Experimental Norman Ernest Borlaug (antes Campo Experimental Valle del Yaqui), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Calle Dr. Norman E. Borlaug Km 12, Ciudad Obregón, Sonora, México, C.P. 85000. Tel. (644) 414 57 00. Correo electrónico: figueroa.pedro@inifap.gob.mx

³ Maestro Titular de Tiempo Completo del Departamento de Agricultura y Ganadería, de la Universidad de Sonora. Km.21 Carretera a Bahía de Kino, Hermosillo, Sonora. Correo electrónico: frivas@guayacan.uson.mx

in order to reduce the frequency of viral diseases in potato in southern Sonora.

Key words: potato, phytopathogenic viruses, PVYN, TEV, PLRV, CMV.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de papa en el estado de Sonora, se ha incrementado significativamente en los últimos años, pasando de 5,012 ha sembradas en el ciclo otoño-invierno 1999, a 10,296 ha para el ciclo otoño-invierno 2007 (www.siap.sagarpa.gob.mx). De esta superficie cultivada más del 90% se concentra en el sur del estado, lo cual implica que para su producción además de los problemas técnicos y de comercialización, el cultivo se somete de manera natural al impacto de plagas y enfermedades, ocasionadas estas últimas por hongos, bacterias, virus y nematodos (Borbón y Armenta, 1996; DGSV, 2004).

Entre los virus más importantes que afectan al cultivo de papa, se ha reportado la presencia del Virus Y de la Papa (PVY), un potyvirus con un amplio rango de hospedantes y uno de los más importantes y frecuentes en el cultivo de papa a nivel mundial; este virus presenta tres diferentes variantes: PVYO (variante Común), PVYC (Línea Punteada) y PVYN (Necrosis de la Nervadura del Tabaco), la cual comprende un aislamiento denominado PVYNTN (Necrosis del Tubérculo de la Papa) que puede reducir la producción y la calidad del tubérculo. Se pueden diagnosticar a menudo por los patrones del mosaico en las hojas y malformaciones de la hoja y del tubérculo (Ames de Icochea, 1980; Nie and Singh, 2002; Stevenson, et al. 2004). Para México, la importancia de las variantes PVYN y PVYNTN radica

en que afectan considerablemente la productividad y calidad del tubérculo; así también por ser consideradas plagas reglamentadas y de importancia cuarentenaria para los países miembros de la NAPPO (SAGARPA, 1996; NAPPO, 2003).

En el Valle del Mayo (sur de Sonora), durante el otoño-invierno de 1997, los virus más comunes en el cultivo de papa fueron: Virus Mosaico del Tomate (ToMV) y Virus Enrollamiento de la Hoja de Papa (PLRV); estando presentes también el Virus Mosaico del Tabaco (TMV), Virus Jaspeado del Tabaco (TEV), Virus Mosaico del Pepino (CMV), Virus Mosaico de la Alfalfa (AIMV), Virus Marchitez Manchada del Tomate (ToSWV) y Virus Moteado Leve del Chile (PMMV) (Ramírez, 1999).

Considerando que en el sur de Sonora se siembra un amplio rango de variedades de papa con heterogeneidad en cuanto a su respuesta a las enfermedades, y bajo un amplio espectro de manejo del cultivo; en el presente trabajo se llevó a cabo la identificación de enfermedades virales y de algunos factores de importancia para su manejo en diferentes variedades en el sur del estado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la identificación de virus

El muestreo se llevó a cabo en experimentos de cultivos de papa a campo abierto, en las instalaciones del Campo Experimental Valle del Yaqui, del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (CEVY-INIFAP), establecidos durante los ciclos agrícolas otoño-invierno 2006–2007 y 2007–2008; adicionalmen-

te se tomaron muestras de plantas con síntomas asociados a virosis, de experimentos para evaluar factores de manejo en lotes de agricultores en los valles del Yaqui y Mayo. El muestreo fue dirigido al follaje de papa que presentaba síntomas asociados a virosis, como hojas enrolladas, mosaicos, mosaicos rugosos, necrosis, enanismo, clorosis y moteados.

Las muestras se analizaron en el Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario del Patronato para la Investigación y Experimentación Agrícola del Estado de Sonora, A.C. (PIEAES, A.C.), para el Virus Y de la Papa (PVY), Virus Y de la Papa variante Necrosis de la Nervadura del Tabaco (PVYN), Virus Jaspeado del Tabaco (TEV), Virus Enrollamiento de la Hoja de Papa (PLRV) y Virus Mosaico del Pepino (CMV). Muestras positivas al Virus Y variante Necrosis de la Nervadura del Tabaco (PVYN) por medio de la técnica de ELISA, fueron corroboradas para la variante Necrosis del Tubérculo de Papa (PVYNTN) mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa-Reversa Transcriptasa (RT-PCR).

Los fragmentos de ADN amplificados del RT-PCR fueron cortados del gel de agarosa y purificados, utilizando el paquete de reactivos High Pure PCR product purification (PROMEGA®) y ligados al vector pGEM-T-Easy vector (PRO-

MEGA®). Posteriormente se realizó la digestión del plásmido con Escherichia coli RI (INVITROGEN®) para verificar si se encontraban los fragmentos amplificados inicialmente insertados. Los fragmentos clonados en E. coli fueron secuenciados en el Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad, del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Unidad Irapuato (CINVESTAV/IPN).

Las secuencias obtenidas fueron comparadas con los datos reportados en The National Center for Biotechnology Information (NCBI), mediante la herramienta BLAST (Block Local Alignment Search) (Altschul, et al. 1994) que proporciona los porcentajes de homología y similitud que existe entre secuencias blanco obtenidas y las secuencias de la base de datos del NCBI. Así mismo se realizaron los árboles filogenéticos mediante el programa bioinformático MEGA 3.1.

Evaluación de factores de manejo. Durante los ciclos otoño-invierno 2006–2007 y 2007-2008, se seleccionaron variedades de papa utilizadas por los productores de la región, así como algunas de reciente introducción.

En el ciclo agrícola otoño-invierno 2006–2007 y 2007-2008, se seleccionaron diferentes localidades del sur de Sonora para la toma de muestras. En una localidad se utilizó material certificado

Se identificaron los Virus Y de la Papa (PVY), Virus Y de la Papa variante Necrosis de la Nervadura del Tabaco (PVYN) y Virus Jaspeado del Tabaco (TEV) en el cultivo de papa en el sur de Sonora. Se confirma la presencia del Virus Y de la Papa variante Necrosis del Tubérculo de la Papa (PVYNTN), en el cultivo de papa en el sur de Sonora, considerado de importancia cuarentenaria para México.

libre de virus y para otras localidades no se determinó la sanidad del material propagativo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

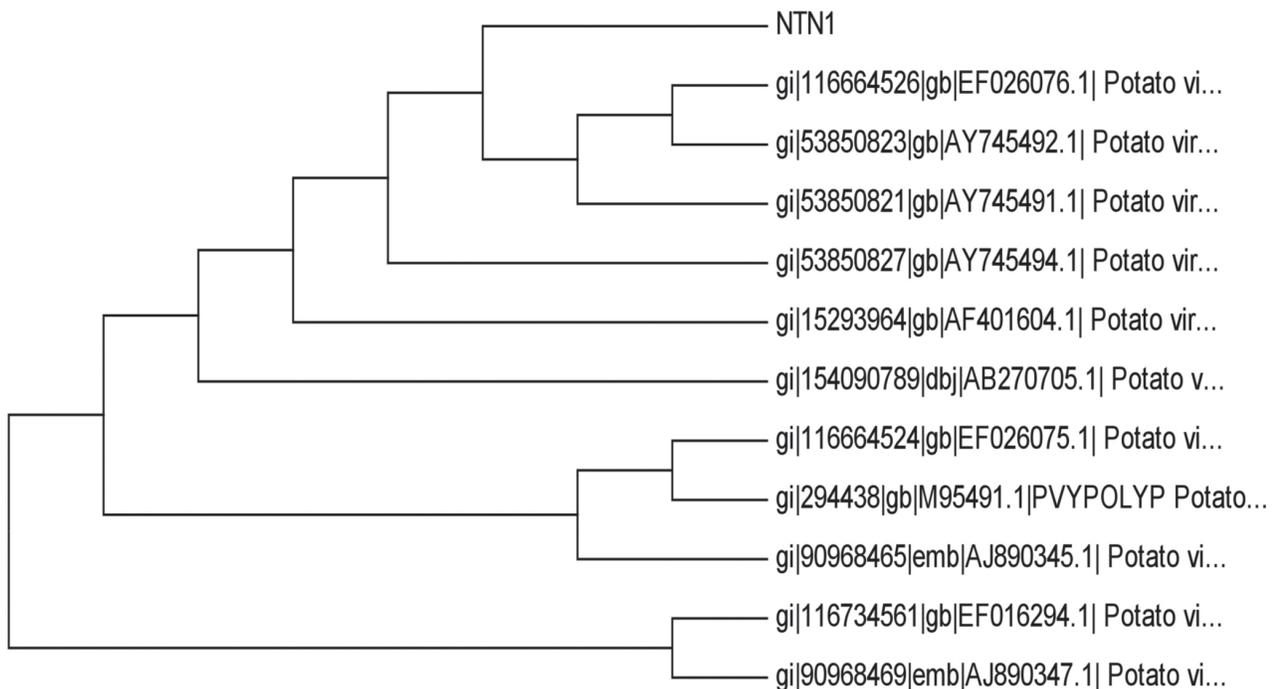
Virus detectados mediante la técnica de ELISA y RT-PCR

Los virus detectados por medio de la técnica de ELISA en las muestras procesadas fueron: Virus Y de la Papa (PVY), Virus Y de la Papa variante Necrosis de la Nervadura del Tabaco (PVYN) y Virus Jaspeado del Tabaco (TEV). El virus detectado por medio de la técnica de RT-PCR, fue el Virus Y de la Papa variante Necrosis del Tubérculo de Papa (PVYNTN). Estos resultados concuer-

dan en parte con los reportados para el Valle del Mayo en el sur de Sonora por Ramírez (1999). El Virus Enrollamiento de la Hoja de Papa (PLRV) y Virus Mosaico del Pepino (CMV) no fueron detectados en las muestras analizadas. Aquí cabe hacer la aclaración que la mayoría de las muestras procesadas presentaban alguna sintomatología asociada a virosis, por lo que existe la posibilidad que estén otros virus presentes en el cultivo de papa en el sur de Sonora, o también otros patógenos o deficiencias de nutrientes que estén ocasionando síntomas similares.

Análisis bioinformático y construcción el árbol filogenético del clon NTN1. Se realizó el árbol filogenético (Fig. 1) de la secuencia de 379

Figura 1. Árbol filogenético del clon NTN1 (sur de Sonora) mostrando la homología con once aislamientos del mundo publicado en la base de datos (NCBI).



pares de bases analizada en la base de datos del NCBI del clon NTN1 (obtenida del sur de Sonora) y se comparó con once aislamientos de diferentes regiones del mundo para realizar los múltiples alineamientos, se encontró una similitud de identidad del 100% con dos aislamientos de PVYNTN de Eslovenia, un 99% con aislamiento de PVYNTN de Alemania y Reino Unido y un 98% con reportes de aislamientos de PVYN:O de Estados Unidos y un 92% de homología con aislamientos de PVYN reportados en Canadá (Tabla 1). Aunque se encontró una alta homología con diferentes aislamientos del mundo, la presencia del virus podría deberse a importaciones de papa

proveniente de Norteamérica, debido a la importación de tubérculo para semilla proveniente de esa región. La diversidad y recombinación del Virus PVY es variada. En los cultivos de papa del sur de Sonora se encontraron PVY y PVYN mediante pruebas serológicas, mientras que con RT-PCR y la comparación y análisis de secuencias putativamente se encontró la presencia de PVYNTN. Esta información es inquietante por la agresividad de esta variante en otras regiones del mundo, sin embargo según comentarios personales de productores no se han visto afectados de manera significativa en la producción como se reporta en otros países.

Tabla 1. Porcentaje de similitud del clon NTN1 en comparación con aislamientos de PVYNTN y PVYN:O de varias partes del mundo (Eslovenia, Alemania y Reino Unido).

Número de accesión	Descripción	Similitud de identidad
EF026075.1	Virus Y de la papa variante NTN	100
AF401604.1	Virus Y de la papa variante N	100
AB270705.1	Virus Y de la papa variante N	99
AJ890347.1	Virus Y de la papa variante NTN	99
AJ890345.1	Virus Y de la papa variante NTN	99
M95491.1	Virus Y de la papa variante N	99
EF016294.1	Virus Y de la papa variante NTN	99
EF026076.1	Virus Y de la papa variante N:O	99
AY745494.1	Virus Y de la papa variante N:O	99
AY745492.1	Virus Y de la papa variante N:O	99

Tabla 2. Análisis de X² de la frecuencia de muestras positivas a diferentes virus en 4 localidades del sur de Sonora, ciclo 2006/2007.

POSITIVOS	O	E	O-E	(O-E) ²	(O-E) ² /E
Valle del Mayo	14	7.54	6.46	41.72	5.53
Valle del Yaqui	14	6.79	7.21	52.03	7.67
Huatabampo	13	7.16	5.84	34.06	4.75
CEVY-INIFAP	5	24.51	-19.51	380.57	15.53
				X ² =	33.48

Determinación de virosis entre localidades.

En los resultados de las muestras analizadas en el ciclo 2006/2007 de las localidades del sur de Sonora, se observa una notoria diferencia de la frecuencia de muestras positivas registradas en el CEVY-INIFAP con respecto al resto de las localidades. Para determinar la significancia estadística de estas diferencias se realizó un análisis de conteos (no paramétrico), mediante la prueba de ji cuadrada (X^2), cuyos resultados se muestran en la Tabla 2.

El valor obtenido de ji cuadrada, 33.48, nos indica que la probabilidad de obtener una desviación tan grande o mayor a la observada, debida a la casualidad, es menor a 0.001 (considerando el valor de 16.268, para 3 grados de libertad), por lo que se rechaza la hipótesis nula de que las 4 localidades pertenecen a la misma población. Observando que la localidad CEVY-INIFAP fue la que contribuyó más al valor obtenido de X^2 , se realizó nuevamente un análisis excluyendo dicha localidad (Tabla 3), para probar la hipótesis nula de que las localidades de Valle del Mayo, Huatabampo y Valle del Yaqui pertenecen a la misma población. En él se observa una drástica reducción del valor de X^2 a 0.13, indicando que la probabilidad de

obtener una desviación tan grande o mayor a la registrada entre los valores observados y los esperados, debida a la casualidad, es mayor a 0.95 (considerando el valor de 0.352, para 3 grados de libertad), por lo que se acepta la hipótesis nula de que las 3 localidades pertenecen a la misma población.

Considerando ambos análisis, y que el CEVY-INIFAP está dentro del Valle del Yaqui, se infiere que la diferencia entre esta localidad y el resto no es atribuible a su localización geográfica sino a algún otro factor. Comparando las características de los lotes establecidos en las cuatro localidades, es evidente que el origen del material reproductivo utilizado en cada localidad tuvo un papel determinante en los niveles de incidencia de plantas con síntomas, ya que la semilla utilizada en el CEVY-INIFAP fue material certificado como libre de virus, mientras que el material propagativo utilizado en el resto de las localidades fue material producido por varias generaciones en la región, por lo que había estado expuesto a la infección durante varias generaciones. Por lo tanto, estos resultados se consideran evidencia de la importancia de utilizar material propagativo sano para disminuir la frecuencia de infección de enfermedades virales.

Tabla 3. Análisis de X^2 de la frecuencia de muestras positivas a diferentes virus en 3 localidades del sur de Sonora, ciclo 2006/2007 (excluyendo CEVY-INIFAP).

POSITIVOS	O	E	O-E	(O-E) ²	(O-E) ² /E
Valle del Mayo	14	12.95	1.05	1.11	0.09
Valle del Yaqui	14	14.39	-0.39	0.15	0.01
Huatabampo	13	13.67	-0.67	0.44	0.03
				$X^2 =$	0.13

Estudio de la influencia varietal y del ambiente sobre la incidencia de virosis. Para probar la hipótesis nula de que no existen diferencias significativas en la susceptibilidad a virosis entre variedades, se analizaron los datos de las muestras procesadas durante el ciclo 2007/2008 en el CEVY-INIFAP (material certificado como libre de virus al inicio del experimento) realizando un análisis de conteos (no paramétrico), mediante la prueba de ji cuadrada (X^2), cuyos resultados se muestran en la Tabla 4.

Se observa que el valor obtenido de ji cuadrada, 1.98, nos indica que la probabilidad de obtener una desviación tan grande o mayor a la observada entre las 4 variedades comparadas, debida a la casualidad, es mayor a 0.50 (considerando el valor de 2.366, para 3 grados de libertad), por lo que se

sostiene la hipótesis al no detectarse diferencias significativas entre las variedades evaluadas.

Asumiendo que no existen diferencias significativas entre variedades, se realizó otro análisis de ji cuadrada agrupando los resultados de todas las variedades evaluadas durante los ciclos 2006/2007 para compararlos con los datos agrupados de todas las variedades evaluadas durante 2007/2008 en el CEVY, para evaluar la diferencia en incidencia entre años, la cual es atribuible a factores ambientales (bióticos y abióticos). Los resultados de la prueba de ji cuadrada (X^2) se muestran en la Tabla 5.

Se observa que el valor obtenido de ji cuadrada, 6.35, nos indica que la probabilidad de obtener una desviación tan grande o mayor a la observada,

Tabla 4. Análisis de X^2 de la frecuencia de muestras positivas a virus en diferentes variedades en la localidad CEVY-INIFAP, ciclo 2007/2008.

POSITIVOS	O	E	O-E	(O-E) ²	(O-E) ² /E
Alpha	7	4.5	2.5	6.25	1.38
Fianna	4	4.5	-0.5	0.25	0.05
FL-867	4	4.5	-0.5	0.25	0.05
Satina	4	4.5	-1.5	2.25	0.50
				$X^2 =$	1.98

Tabla 5. Análisis de X^2 de la frecuencia de muestras positivas a virus en la localidad CEVY-INIFAP, ciclo 2006/2007 y 2007/2008.

POSITIVOS	O	E	O-E	(O-E) ²	(O-E) ² /E
2006/2007	60	46.24	13.76	189.33	4.09
2007/2008	18	25.61	-7.61	57.91	2.26
				$X^2 =$	6.35

debida a la casualidad, es menor a 0.05 (considerando el valor de 3.841, para 1 grados de libertad), por lo que se rechaza la hipótesis nula de que no hay diferencias entre años. Se sugiere considerar el estudio de factores ambientales (bióticos y abióticos) en estudios subsecuentes para cuantificar su influencia sobre la incidencia de cada virus en particular.

CONCLUSIONES

Se identificaron los Virus Y de la Papa (PVY), Virus Y de la Papa variante Necrosis de la Nervadura del Tabaco (PVYN) y Virus Jaspeado del Tabaco (TEV) en el cultivo de papa en el sur de Sonora.

Se confirma la presencia del Virus Y de la Papa variante Necrosis del Tubérculo de la Papa (PVYNTN), en el cultivo de papa en el sur de Sonora, considerado de importancia cuarentenaria para México.

Se encontró de un 92 a 100% de homología del virus PVYNTN del sur de Sonora con diferentes aislados de Europa y Norteamérica.

Se evidencia la importancia de utilizar material propagativo sano para disminuir la frecuencia de infección de enfermedades virales en papa en el sur de Sonora.

Con el presente trabajo se establecen las bases para la caracterización de virus fitopatógenos que afectan al cultivo de papa en el sur de Sonora.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Sonora, Departamento de Agricultura y Ganadería. Instituto Nacional de

Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Valle del Yaqui (INIFAP/CEVY). Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario del Patronato para la Investigación y Experimentación Agrícola del Estado de Sonora, A.C. (PIEAES, A.C.).

REFERENCIAS

- Ames de Icochea, T. 1980. Compendio de enfermedades de la papa. Primera edición. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú. 10-166p.
- Borbón, J.T. y C.M. Armenta. 1996. El cultivo de papa en el sur de Sonora. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, Centro de Investigación Regional del Noroeste (INIFAP-CIRNO). Publicación Técnica Núm. 1.
- DGSV. 2004. Dirección General de Sanidad Vegetal. Memorias curso taller: "Detección de Patógenos de Importancia Cuarentenaria y Regulados en Papa". Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). México, D.F.
- NAPPO. 2003. Norma Regional Sobre Medidas Fitosanitarias No. 3, Requisitos para la importación de papa hacia un país miembro de la NAPPO. Organización Norteamericana de Protección a las Plantas (NAPPO). Ottawa, Canada. 52pp.
- Nie, X. and Singh, R.P. 2002. Probable geographical grouping of PVYN and PVYNTN based on sequence variation in P1 and 5-UTR of PVY genome and methods for differentiating. North American PVYNTN. Journal of Virological Methods. 103:145-156.

- Ramírez, J.A. 1999. Virus de solanáceas y cucurbitáceas cultivadas en el Valle del Mayo. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Noroeste (INIFAP-CIRNO). Folleto Técnico No. 4.
- SAGARPA. 1996. Norma Oficial Mexicana NOM-012-FITO-1996. Por la que se establece la cuarentena exterior para prevenir la introducción de plagas de la papa. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). México. D.F.
- Stevenson, R. W., R. Loria, D.G. Franc, and P.D. Weingartner. 2004. Compendium of potato diseases. Second printing. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, U.S.A. 106pp.

Sitio de internet

- SIAP. 2008. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Disponible en: (www.siap.sagarpa.gob.mx). Consultado 13 de Agosto de 2009.