

Comportamiento de aislamientos locales de PVX y PVY^N en el tamizado para resistencia a los virus X e Y de la papa

I BUTZONITCH¹, MÓNICA COLAVITA², SILVIA CAPEZIO² Y M HUARTE¹

¹ INTA, Estación Experimental Agropecuaria Balcarce. CC 276, 7620 Balcarce, Argentina

² Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata.
CC 276, 7620 Balcarce, Argentina

RESUMEN

Los aislamientos de los virus X (PVX) e Y (PVY^o) son utilizados para identificar genotipos resistentes en el mejoramiento genético de la papa. Dado que recientemente no ha sido hallado PVY^o en las principales áreas productoras de papa de la Argentina, se experimentó su reemplazo por aislamientos locales de PVX y PVY^N. Estos se seleccionaron por los síntomas severos que inducía su presencia simultánea en el cv. Spunta. PVX se aisló mediante transmisión mecánica a *Datura stramonium* y PVY^N por transmisión a tabaco cv. Samsun mediante *Myzus persicae*. La aptitud de estos aislamientos para la identificación de genotipos resistentes se comparó con la de PVX y PVY^o provenientes del Uruguay. Ambos inóculos se prepararon mezclando el jugo extraído de 2 g de hojas de *Nicotiana glutinosa* que contenía uno de los aislamientos de PVX con el jugo extraído de 2 g de hojas de *Nicotiana occidentalis*, portadora del aislamiento de PVY. Estas mezclas se diluyeron en 100 ml de agua con 5 g de carburo de silicio de 600 mallas. La inoculación se efectuó con aerógrafo a 1,8 kg. cm⁻² de presión, desde un centímetro de distancia de las hojas, hasta notar su infiltración. Los aislamientos locales indujeron síntomas en el 33 % de las plántulas de cada familia y los introducidos en el 21 %, para un total de 1969 y 1986 plántulas, respectivamente. La diferencia en favor de los aislamientos locales fue altamente significativa. La utilización de estos aislamientos disminuye el riesgo de difusión de otras razas y selecciona genotipos resistentes a las prevalentes en el país.

Palabras clave: papa, PVY^N, PVX, tamizado, resistencia.

Recibido el 3 de octubre de 1995. Aceptado, en versión modificada, el 15 de octubre de 1996

Behavior of local isolates of PVX and PVY^N in the screening for resistance to potato viruses X and Y

SUMMARY

Isolates of potato virus X (PVX) and potato virus Y (PVY), of the «common strain» group (PVY^O), are generally used in the screening for resistance in potato breeding programs. Since PVY^O strains have not been lately found in the main potato growing areas of Argentina, they were experimentally replaced by local isolates of PVX and PVY^N. These isolates, obtained in the southeast area of the province of Buenos Aires, were selected because of the severe symptoms they induced when they were simultaneously present in potato plants of cv. Spunta. PVX was isolated by mechanical transmission to *Datura stramonium* and PVY^N by *Myzus persicae* transmission on tobacco cv. Samsun. The aptitude of these isolates for the screening of resistant genotypes was compared with that of PVX and PVY^O from the Uruguayan Breeding Program. Each inoculum was prepared by mixing the juice extracted from 2 g of *Nicotiana glutinosa* leaves containing one of the PVX isolates with that extracted from 2 g of leaves of *Nicotiana occidentalis* that carried the corresponding PVY isolate. These mixtures were then diluted in 100 ml water and 5 g of silicon carbide 600 mesh were added. Inoculation was performed by spraying with an airbrush, positioned 1 cm away from the plantlets, at a pressure of 1.8 kg.cm⁻². Plantlet leaves were sprayed until water soaking of the leaves was evident. Local isolates induced conspicuous symptoms in 33 % of the plantlets of each family, whereas the foreign ones induced symptoms in 21 % of them, from a total of 1969 and 1986 plantlets, respectively. The difference was highly significant. It is concluded that the local isolates were more efficient for the screening of resistant genotypes than the foreign ones. They also have the advantages of diminishing the risk of diffusion of exotic strains and of selecting genotypes resistant to the prevalent type of strains in our potato area.

Key words: potato, PVY^N, PVX, screening, resistance.

INTRODUCCIÓN

El virus Y de la papa (PVY) constituye en la actualidad el mayor obstáculo para la producción de semilla sana en gran parte de la Argentina. La utilización de cultivares resistentes ofrece un modo eficiente de control de las virosis. La presencia simultánea en las plantas de papa del virus X (PVX) y del PVY induce la aparición del **mosaico rugoso**, que se manifiesta con síntomas conspicuos y es una de las enfermedades más destructivas del cultivo (Smith, 1972).

En la selección por resistencia a los virus de la papa, que incluye generalmente al PVX, PVY, y al virus del enrollado de la hoja (PLRV), se procura obtener simultáneamente resis-

cia a PVY y PVX. Ello se debe a que la susceptibilidad a cualquiera de éstos determina que las plantas infectadas pierdan su carácter de resistentes al PLRV (Jayasinghe *et al.*, 1989).

En el tamizado para resistencia a PVX y PVY se utilizan generalmente aislamientos del grupo PVY^O, dado que generalmente inducen, por sí solos, síntomas severos en la infección primaria (la del primer año), mientras que los del grupo PVY^N son usualmente inconspicuos (de Bokx y Huttinga, 1981). Esta característica del grupo PVY^O se considera importante pues permite tamizar las plántulas para PVY aún en el caso de no producirse la infección mixta por PVX y PVY con la consiguiente aparición de síntomas conspicuos. Por el contra-

rio, si se utilizan razas de **PVY^N**, un accidental fracaso en la producción de infecciones mixtas haría indetectables, a simple vista, las plántulas infectadas únicamente con estas razas de **PVY**. Sin embargo, ambos grupos de razas inducen síntomas conspicuos en infecciones mixtas con **PVX**. Por otra parte, los métodos de tamizado para búsqueda de resistencia en plantas de propagación vegetativa, como papa, deben ser sencillos, rápidos y económicos, dada la gran cantidad de plantas a probar para lograr el genotipo deseado. En el caso de utilizar razas locales, un escape por no evidenciarse síntomas no aparea riesgo, sino una muy leve pérdida de eficiencia en el tamizado. Ello es así, dado que la planta será muy probablemente descartada en los primeros años de selección a campo por carecer de alguna de las características agronómicas buscadas. Posteriormente adquirirá ambos virus y mostrará síntomas en alguno de los siguientes cinco a seis años del proceso de selección y será descartada. Finalmente los pocos clones que sobrevivan al proceso de selección, entre los que podría encontrarse el que pasó el tamizado, serán inoculados experimentalmente y ensayados mediante ELISA para verificar si se trata de clones resistente o tolerantes sin síntomas. El uso del método ELISA para cada plántula en la primera etapa del proceso de selección sería antieconómico, dado que en un programa de mejoramiento genético para resistencia a **PVX** y **PVY** se deben tamizar entre 5000 y 10000 plantas anualmente. El costo de utilizar ELISA sería entre 4000 y 8000 dólares anuales, razón por la cual los mejoradores de papa utilizan, en una primera etapa de selección, métodos rápidos de tamizado que permitan distinguir las plántulas enfermas a simple vista. Esto permite disminuir apreciablemente el número de plantas a transplantar a campo durante el primer año y el costo correspondiente.

En el periodo 1970-73, en el sudeste de la provincia de Buenos Aires (SEPBA), la determinación de razas de **PVY** en 35 aislamientos

tomados al azar evidenció que el 77 % de los mismos pertenecía al grupo de razas **PVY^N** (Delhey, 1982). En 1980, como resultado de un relevamiento realizado en el Noroeste Argentino sobre cultivos hechos principalmente con tubérculos provenientes del SEPBA, no se halló ningún aislamiento perteneciente al grupo de razas **PVY^O**. Consecuentemente, en un mapa de distribución de razas se clasificó a ambas zonas como áreas de **PVY^N** (Fernández-Northcote, 1990). En 1982 sobre 37 aislamientos de **PVY**, obtenidos de la maleza perenne *Solanum sisymbriifolium* en el SEPBA, el 79 % correspondió a razas de **PVY^N** y el resto a razas de **PVY^O**. (Butzonitch *et al.*, 1984). En 1991, en una búsqueda orientada específicamente a hallar **PVY^O** en el SEPBA, se encontró que 43 plantas del cultivar Spunta, 25 de Bintje, 10 de Huinkul y una de Kennebec que mostraban síntomas leves similares a los inducidos por algunos aislamientos de **PVY^O** contenían solamente aislamientos de **PVY^N** (Butzonitch, datos inéditos). Los datos mencionados sugieren que **PVY^N** ha reemplazado paulatinamente a **PVY^O** en los cultivos de papa en la Argentina. Dado que no hemos hallado razas de **PVY^O** en el SEPBA, se plantean las alternativas de utilizar una raza de **PVY^O** proveniente de otro país o utilizar razas locales de **PVY^N**, en ambos casos con una raza de **PVX** de probada eficiencia en la correspondiente inoculación simultánea. La primera alternativa tiene la desventaja de introducir nuevas razas de patógenos en el área, pues existe la posibilidad de que algunas de las plántulas tolerantes a **PVY** sean sólo infectadas por este virus y pasen el tamizado sin ser detectadas. Del mismo modo las plántulas que resultasen infectadas solamente por un aislamiento importado de **PVX**, las cuales son, por lo general, asintomáticas, podrían introducir fácilmente en el área nuevas razas de este virus. La ocurrencia de las mismas circunstancias en la segunda alternativa no tendría tales implicancias epidemiológicas. Por otra parte, utilizando razas locales de ambos virus la resistencia del material sería ensayada

con razas del mismo grupo que las que éste enfrentará ulteriormente en el campo.

El objeto de este trabajo fue determinar la posibilidad de utilizar aislamientos locales de PVX y del grupo de razas PVY^m en el tamizado de genotipos resistentes a los virus X e Y de la papa y comparar su eficiencia respecto al empleo de aislamientos importados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamientos

A partir de 1.500 tubérculos del cv. Spunta, provenientes de cultivos comerciales del SEPBA, se seleccionaron en invernadero, mediante ELISA, siete plantas libres de los virus S, M, y PLRV e infectadas con PVY^m y PVX. Estas plantas mostraban síntomas muy severos de **mosaico rugoso**. De este grupo se obtuvieron los correspondientes pares de aislamientos: de PVY^m mediante la transmisión por *Myzus persicae* a plantas de tabaco cv. Samsun y de PVX por transmisión mecánica a *Datura stramonium*. Posteriormente, para ser utilizado en el tamizado, se seleccionó uno de los pares de aislamientos. El criterio de selección se basó en la mayor severidad de los síntomas en la papa, la inducción consistente de severa necrosis de nervaduras en tabaco Samsun por el componente Y y la inducción de mayor cantidad de lesiones locales en *Gomphrena globosa* por el componente X. Los aislamientos de PVX y PVY^m utilizados como referencia provienen del Programa de Mejoramiento Genético de Papa del Uruguay y fueron cedidos gentilmente por el Dr. F. Vilaró.

Plántulas de papa

Los aislamientos se ensayaron sobre familias de plántulas del Plan de Mejoramiento de Papa de la Estación Experimental Balcarce,

INTA. Las plántulas, cuyos progenitores poseen inmunidad o resistencia extrema a uno o ambos de los virus considerados, se obtuvieron de semilla proveniente del Centro Internacional de la Papa (CIP).

Obtención de las plántulas, preparación del inóculo e inoculación

Se utilizaron los métodos difundidos por el CIP (Fernández-Northcote, 1991). Los dos inóculos utilizados se prepararon con el jugo obtenido de 2 g de hojas de *Nicotiana glutinosa* mezclados con el de 2 g de *Nicotiana occidentalis*, portadoras respectivamente de PVX y de PVY. Esta mezcla se diluyó en 100 ml de agua y se le agregó 5 g de carburo de silicio de 600 mallas. La inoculación se realizó con un aerógrafo a 1,8 kg.cm⁻², a un centímetro de distancia, hasta notar la infiltración del líquido en el parénquima foliar.

La eficacia del par de aislamientos elegido se estimó mediante una experiencia preliminar, sobre un grupo de 1.441 plántulas provenientes de 18 cruzamientos, en el que se determinó el porcentaje con síntomas.

Diseño experimental

Se compararon los porcentajes de plántulas con síntomas inducidos por cada par de aislamientos en 47 familias de aproximadamente 84 plántulas cada una. Para ello se dividió en mitades las bandejas conteniendo las plántulas de cada familia. Estas mitades se asignaron al azar a dos grupos, uno de ellos se inoculó con el par de aislamientos locales y el otro con los aislamientos de referencia, configurando un diseño en bloques con dos tratamientos y 47 repeticiones. Los porcentajes de plántulas con síntomas se transformaron por el arco seno de la raíz cuadrada para independizar la varianza de la media. Se estableció el promedio de los porcentajes de plántulas con síntomas para cada tratamiento. Los promedios se compararon con el test LSD, $P \leq 0,01$.

Tabla 1. Medias de los porcentajes de plántulas de papa con síntomas conspicuos, en 47 familias, luego de un tamizado para resistencia a PVX y PVY mediante la inoculación con aerógrafo de pares de aislamientos locales e importados.

Mean percentage of potato plants, in 47 families, showing conspicuous symptoms after screening for resistance to PVX and PVY by airbrush inoculation with pairs of local and foreign isolates.

Origen de los aislamientos	Número de plántulas inoculadas	Número de plántulas con síntomas	Media de los porcentajes de plántulas con síntomas
Locales ¹	1969	660	33
Importados ²	1986	416	21

¹PVX 10 + PVY^N 10 provenientes de una planta del cv. Spunta del SE de la Provincia de Buenos Aires. ²PVX + PVY^o provenientes del Programa Uruguayo de Mejoramiento de Papa. Las medias de los porcentajes de plántulas con síntomas difieren significativamente ($P \leq 0,01$). No se detectó interacción familia * tratamiento.

¹PVX 10 + PVY^N 10 arising from a plant of cv. Spunta collected in the SE of the province of Buenos Aires. ²PVX + PVY^o arising from the Uruguayan Potato Breeding Program. Mean values of the percentages of plantlets showing symptoms differ significantly ($P \leq 0,01$). No interaction family * treatment was detected.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el ensayo preliminar de inoculación el par de aislamientos locales indujo síntomas conspicuos en el 44,3 % de las plántulas.

En la Tabla 1 se resumen los resultados obtenidos al inocular plántulas con aislamientos locales e importados de PVX y PVY durante una segunda temporada.

Se observa que la media de los porcentajes de plántulas infectadas en cada familia fue mayor cuando se utilizaron aislamientos locales de PVY^N y de PVX. Estos resultados permiten inferir una mayor eficiencia de los aislamientos locales en el tamizado de las plántulas.

El análisis de los resultados no evidenció interacción entre familias y aislamientos.

El hecho de que ni Fernández-Northcote (1960) ni los autores de este trabajo hayan podido encontrar aislamientos de PVY^o en dos importantes zonas del país, permite plantear la hipótesis de su desplazamiento por PVY^N. Esta hipótesis esta de acuerdo con las características de PVY^N. Este grupo de razas se difunde mas rápidamente que PVY^o en el campo. Ello se debe a que los síntomas inducidos son leves y aparecen tardíamente en la esta-

ción dificultando la erradicación de las plantas enfermas; la traslación desde las hojas a los tubérculos es mas rápida y la resistencia de la planta madura es menor que para otros virus de la papa (Beemster y Rozendal, 1972).

CONCLUSIONES

En nuestro país, los aislamientos de PVX y de PVY^o introducidos desde otras áreas pueden ser reemplazados con ventajas por un aislamiento local de PVX y otro de PVY^N.

En las áreas donde no existiese el PVY^N no sería aconsejable utilizar aislamientos de este grupo de razas en el mejoramiento genético por comportamiento a PVY.

BIBLIOGRAFÍA

- Beemster ABR and A Rozendal (1972) Potato viruses: properties and symptoms. En: Viruses of potatoes and seed-potato production. JA de Bokx, Ed. Pudoc, Wageningen: 115-143.
- Butzonitch IP, I Montes, S Induni y SI Alonso (1984) *Solanum sisymbriifolium* Lam., reservorio natural del virus Y de la papa en el sudeste de la

- Provincia de Buenos Aires. *Fitopatología* 19: 89-92.
- de Bokx JA and H Huttinga** (1981) Potato virus Y. CAB, Descriptions of Plant Viruses no. 242. 6 pp.
- Delhey R** (1982) Virus Y and its dynamics in the main potato growing area of Argentina. *Fitopatología* 17: 30-39.
- Fernández-Northcote EN** (1990) Variability of PVX and PVY and its relationship to genetic resistance. En: Control of virus and virus-like diseases of potato and sweet potato. Report of the III Planning Conference, Lima, Peru, 20-22 Nov. 1989. Lima, CIP: 131-139.
- Fernández-Northcote EN** (1991) Potato seedling screening for resistance to potato virus X and Y by the mass inoculation technique with spray gun. International Potato Center, Lima, Peru. CIP Research Guide no. 37. 12 pp.
- Jayasinghe U, C Chuquillanqui and LF Salazar** (1989) Modified expression of virus resistance in potato mixed virus infection. *American Potato Journal* 66:137-144.
- Smith KM** (1972) Rugose Mosaic. Component viruses X and Y. En: Ed. Smith KM. A textbook of plant virus diseases. 3 ed. Longman, Edinburgh. p. 424.