

## PREVALENCIA DEL VIRUS X EN PLANTACIONES COMERCIALES DE PAPA EN LA ZONA DEL VOLCAN IRAZU, CARTAGO, COSTA RICA<sup>1</sup> \*

Carlos Ramírez-Martínez\*\* y Rodrigo Gámez \*\*\*

### ABSTRACT

Prevalence of Virus X in commercial potato plantations in the Irazú Volcano area, Cartago, Costa Rica. The chloroplast-agglutination serologic technique was used to determine the prevalence of infection by Potato Virus X in six commercial plantations of this crop (*Solanum tuberosum* L.) in the potato growing area near the Irazú Volcano, Cartago, Costa Rica. Of 611 plants examined 90% were infected. The use of the chloroplast-agglutination technique proved to be quite convenient in surveying a large number of plants for PVX.

### INTRODUCCION

El virus X de la papa (VXP) es uno de los más importantes en este cultivo, no solamente por su amplia distribución geográfica, sino también por la elevada prevalencia y por su marcado efecto sobre la producción (2, 12). Este virus fue identificado en Costa Rica por Ramírez (13).

La utilización de clones de papa libres de virus constituye un requisito elemental en la producción de semillas de calidad (9, 11). En el pasado se intentó eliminar las plantas infectadas en los cultivos de semilla, basándose exclusivamente en los síntomas (1). Sin embargo, dada la variabilidad de los mismos, e incluso su enmas-

caramiento, este procedimiento no es totalmente satisfactorio (11). Es más apropiado identificar las plantas infectadas con plantas indicadoras (6, 10, 14) o por serología (4, 7, 17) para descartarlas y propagar las sanas bajo condiciones que impidan su contaminación. De todos los métodos utilizados para detectar los materiales sanos, el método serológico es el más adecuado para un programa de producción de semilla de papa en gran escala, por ser rápido, sensible, específico y económico (15, 16, 17).

Como en Costa Rica no existe un programa de producción de semilla de papa libre de virus, se ha considerado de suma importancia darle inicio, para lo cual se requiere contar con métodos serológicos adecuados para la identificación de los virus presentes. En este trabajo se informa de la incidencia del VXP en la zona papera de Cartago, Costa Rica, utilizando la técnica de aglutinación de cloroplastos.

### MATERIALES Y METODOS

Para observar la prevalencia del VXP en el campo, se tomaron muestras de plantaciones de dos zonas arbitrariamente escogidas de la región del Volcán Irazú, en Cartago: 1) zona alta, superior a los 2.500 m sobre el nivel del mar; y 2) zona

<sup>1</sup> Recibido para su publicación el 13 de setiembre de 1979.

\* Parte de la tesis de Magister Scientiae presentada por el primer autor al Sistema de Estudios de Posgrado de la Universidad de Costa Rica.

\*\* Laboratorio de Suelos, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

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

media, de 2.000 a los 2.500 m. De acuerdo con Tossi (18), la zona alta corresponde al Bosque Muy Húmedo Montano, con una temperatura media anual de 6 a 12 C y precipitación de 1.000 a 2.000 mm. La zona media corresponde al Bosque Húmedo Montano Bajo, con una temperatura anual de 12 a 24 C y precipitación de 1.000 a 2.000 mm. De cada zona se tomaron tres lotes, siendo el tamaño de cada muestra de 140 tubérculos. Antes de que brotaran, los tubérculos se trataron con una solución de ácido giberélico al 0,01%, Agrimicina<sup>R</sup> (Pfizer) al 0,03% (estreptomina más agrimicina) y Mertec<sup>R</sup> al 0,03% (Merck), con el objeto de acelerar la aparición de los brotes y evitar la pudrición de los mismos, y se colocaron en bolsas de papel numeradas. Una vez que los tubérculos brotaron se sembraron en el campo y se les trató, tanto en la bolsa como en el surco de siembra, con Maneb (Bis-ditiocarbamato de manganeso) para evitar el ataque de hongos, y con Timet<sup>R</sup> (Cyanamid) para evitar el ataque de insectos; los tubérculos se sembraron en hileras separadas 70 cm entre sí y con plantas separadas cada 50 cm. Al mes de la siembra y cuando el follaje estaba aún pequeño se tomaron muestras para las pruebas de aglutinación de cloroplastos.

La aglutinación de cloroplastos se realizó sobre láminas de vidrio de 5 X 7,5 cm cubiertas con una delgada película de polivinil-formol (PVF) que hace la superficie hidrofóbica y mantiene las gotas del antisuero en posición (16). Sobre cada lámina de vidrio se vertió 1 ml de una solución al 0,75% de PVF en cloroformo, procurando distribuirla rápida y uniformemente sobre la superficie. Al evaporarse el cloroformo quedó la película de PVF. Una vez seca la lámina, se depositaron hasta 35 gotas de 0,025 ml de antisuero diluido de 1:8. En todas las pruebas se incluyeron los siguientes controles negativos: suero normal y cloroplastos de planta infectada; antisuero y cloroplastos de planta sana, y como control positivo antisuero y cloroplastos de planta infectada. Los cloroplastos de cada muestra se tomaron con una pequeña barra de vidrio (aproximadamente 0,01 a 0,02 ml del extracto) con lo cual se mezcló la gota del antisuero y los cloroplastos. Después de colocadas las láminas en las cajas de Petri se vertió aceite mineral hasta cubrir las completamente para evitar la evaporación. Las placas se mantuvieron a temperatura ambiente y se observaron cada 1/2 h. hasta las 2 h., en un microscopio con el objetivo de bajo poder.

## RESULTADOS Y DISCUSION

El antisuero contra el VXP aglutinó específicamente los cloroplastos de plantas de papa infectadas con el VXP y no los de plantas sanas. La aglutinación ocurrió en presencia del antisuero diluido hasta 1:32, siendo más fuerte la reacción a diluciones bajas del antisuero. En todas las pruebas subsiguientes se utilizó el antisuero diluido 1:8. El empleo de solución salina con fosfatos (0,15 M) como diluyente del suero se descartó, ya que los fosfatos inducían aglutinación inespecífica. En la reacción de aglutinación la cantidad de cloroplastos que se agrega a cada gota de antisuero es crítica. Tanto un exceso como una cantidad pequeña enmascaran la reacción; en este trabajo se utilizó un volumen aproximado de 0,01-0,02 ml de extracto crudo de planta, que se tomó directamente con una barrita de vidrio, que a su vez se utilizó para mezclar los cloroplastos con 0,05 ml de antisuero.

La presencia del VXP en plantaciones comerciales de papa se estableció por medio de la técnica de aglutinación de cloroplastos en extractos de plantas provenientes de cada uno de los tubérculos. Con excepción de dos grupos, en los cuales se había practicado la eliminación de las plantas con síntomas sospechosos de ser causados por virus, la prevalencia del VXP fue del 95% (Cuadro 1).

La alta prevalencia del VXP en plantaciones comerciales de papa corrobora el hecho descrito de que en ausencia de medidas de control, el virus se mantiene con tasas de infección muy altas (5). Los resultados del muestreo del virus en dos de los lotes de la zona alta, en los cuales se habían eliminado en el ciclo de siembra anterior las plantas con mosaicos sospechosos de ser causados por virus, indican que el citado procedimiento no es totalmente eficiente aunque sí consiguió reducir la infección. La prevalencia del virus en los demás lotes fue cercana al 95%, según la técnica de aglutinación de cloroplastos. Como la eficiencia de esta técnica en la detección del virus comparada con la prueba de infectividad, es del 96% (datos no publicados), la prevalencia real del virus en el campo es mayor al 95%. El hallazgo de plantas sanas se debe posiblemente a que en una planta de papa, infectada sistémicamente, no todos los tubérculos van a estar infectados, a causa de la baja y discontinua traslocación del virus (3).

**Cuadro 1. Prevalencia del virus X de la papa en plantaciones comerciales detectada mediante la técnica de aglutinación de cloroplastos.**

Zona (elevación) msnm	Mues- tra*	Nº de plantas* positivas/ total)	Preva- lencia (%)
Alta (más de 2500m)	1	102/132	77
	2	90/102	88
	3	98/102	96
Media (2000-2500m)	1	36/38	95
	2	98/100	94
	3	128/137	95

\* Las muestras de los tubérculos fueron colectadas en las zonas productoras de papa del Volcán Irazú, Cartago, Costa Rica.

## RESUMEN

Mediante el empleo de la técnica de aglutinación de cloroplastos se determinó la prevalencia del virus X en seis plantaciones comerciales de papa (*Solanum tuberosum* L.) de la zona papera del Volcán Irazú, Cartago, Costa Rica. De las 611 plantas examinadas el 90% resultaron infectadas.

## LITERATURA CITADA

- BAWDEN, F. C., KASSANIS, B. y ROBERTS, F. M. Studies on the importance and control of potato virus X. *Annals of Applied Biology* 35 (2): 250-266. 1948.
- BAWDEN, F. C. *Plant viruses and virus diseases*. 4ed. New York, Ronald, 1964. 361 p.
- BEEMSTER, A.B.R. Translocation of potato virus X in the potato (*Solanum tuberosum* L.) in primarily infected plants. Wageningen. H. Veenman & Zonen, 1958. 98 p.
- BRADLEY, R.H.E. A rapid method of testing plants in the field for potato virus X. *American Potato Journal* 29 (5): 289-291. 1952.
- BOKX, J. A. de. Graft and mechanical transmission. In Bokx, J.A. de., ed. *Viruses of potatoes and seed-potato production*. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation. 1972. pp. 26-35.
- BOKX, J. A. de. Test plants. In Bokx, J.A. de., ed. *Viruses of potatoes and seed-potato production*. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation. 1972. pp. 102-110.
- CHASE, R. W. y THOMPSON, N. R. Selection testing and increase of premier foundation seed stocks in Michigan. *American Potato Journal* 44 (4): 218-223. 1967.
- DOBROV, E. N., KUST S. V. y TICKHONENKO, T. I. The structure of singlestranded virus R. N. A. *in situ*. study of absorption spectra and optical rotatory dispersion of tobacco mosaic virus and potato virus X preparations. *Journal of General Virology* 16 (2) 161-172. 1972.
- HIDDEMA, J. Inspection and quality grading of seed potatoes. In Bokx, J. A. de, ed. *Viruses of potatoes and seed-potato production*. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation. 1972. pp. 206-214.
- HOUTEN, J. G., QUAK, F. y MER, J. van der. Heat treatment and meristem culture for the production of virus-free plant material. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 74 (1): 17-24. 1968.
- MUNRO, J. Maintenance of virus X-free potatoes. *American Potato Journal* 31 (1): 73-82. 1954.
- MUNRO, J. The importance of potato virus X. *American Potato Journal* 38 (10): 440-448. 1961.
- RAMIREZ, W. Estudio sobre el virus de la necrosis de las venas y el virus X de la papa en Costa Rica. Tesis Ing. Agr. Universidad de Costa Rica, Facultad de Agronomía. 1963. 85 p.
- ROBERTS, J. D. Virus tested potatoes in Scotland. *American Potato Journal* 30 (4): 197-204. 1953.
- SHALLA, T. A. Gel-diffusion methods for the serological detection of potato viruses X, S and M. Montana Agricultural Experiment Station. Bulletin N° 662. 1972. 72 p.

- 16. SLOGTEREM, D. H. N. van. Serological micro-reactions with plant viruses under paraffin oil. *In Proceedings of the Second Conference on Potato Virus Diseases*, Lisse, Wageningen, 1954. pp. 51-54.
- 17. SLOGTEREM, D.H.N. van. Serology. *In Bokx, J. A. de, ed. Viruses of potatoes and seed-potato production*. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation. 1972. pp. 87-100.
- 18. TOSSI, J. A. Mapa ecológico de la República de Costa Rica, San José, Costa Rica, Instituto Geográfico Nacional, 1969. Esc. 1: 750.000. Color.