

# Determinación de virus Y<sup>n</sup> en tubérculos de plantas de papas con infección secundaria<sup>1</sup>

Primo Accatino L.<sup>2</sup>

## ANTECEDENTES

Actualmente la diagnosis de virus Y de la papa, incluyendo el strain más virulento, denominado "Strain de la necrosis nervial del tabaco" o virus Y<sup>n</sup> se realiza aplicando la técnica del "Tuber-index" (6) (7). Esta técnica consiste en sembrar una yema u ojo del tubérculo, para examinar posteriormente la planta producida, mediante serología o por inoculación de jugo savial sobre hojas amputadas de *Solanum demissum* A<sub>6</sub> (Sd. A<sub>6</sub>). La posibilidad de determinar la presencia del virus directamente del tubérculo, es de gran importancia, especialmente en aquellos países (Holanda, Alemania, Inglaterra y otros) que poseen Programas de Certificación, que exigen para la clasificación de papa-semilla porcentajes mínimos de infección virosa. Por esta razón, se lleva a cabo el examen de postcontrol, para el cual se toma una muestra de tubérculos en el momento de la cosecha, para determinar en ellos, mediante Tuber-index el porcentaje de infección de virus Y, especialmente del Strain virus Y<sup>n</sup>. Lógicamente, la determinación del virus directamente del tubérculo, significaría una gran economía para los Programas de Certificación y, al mismo tiempo, un paso más hacia el conocimiento sobre el comportamiento del virus en el tubérculo.

La posibilidad de determinar dicho virus directamente en el tubérculo, ha sido por largos años motivo de preocupación de los investigadores, habiéndose obtenido diversos resultados al respecto.

Nienhaus (5), determinó que la multiplicación del virus Y era mayor en tubérculos germinados que en aquéllos en período de latencia, y que la concentración del virus era mayor en tubérculos almacenados entre 15 y 20°C que entre 10 y 26°C. También probó que, ocasionando una herida a tubérculos infectados y almacenándolos por 3 semanas de 18° a 20°C, se estimulaba su germinación, y que al usarlos como inóculo sobre hojas de tabaco, se producían síntomas del virus en las hojas inoculadas.

Denny (4), comprobó que rompiendo la latencia de

tubérculos infectados con virus Y, mediante heridas o con Rindite<sup>3</sup> aumentaba la actividad del virus. De Boxk (3), menciona que virus Y<sup>n</sup> pudo ser detectado en tubérculos provenientes de plantas con infección secundaria, cuando éstos fueron cosechados de plantas en crecimiento. Asimismo informa que la determinación del virus no es apropiada en tubérculos provenientes de plantas viejas o en tubérculos almacenados por un largo tiempo. Obtuvo estos mismos resultados cuando empleó tubérculos provenientes de plantas con infección primaria. Este mismo autor (2), señala que la diagnosis del virus, en todo caso, depende de la concentración en que se encuentra en el tubérculo.

## DETERMINACION DIRECTA DEL VIRUS EN TUBERCULOS

### a) MÉTODO

Con estos antecedentes, y contando con material de tubérculos provenientes de plantas con infección secundaria de virus Y<sup>n</sup>, se realizó la siguiente investigación cuyos principales objetivos fueron:

1. Elaborar un método de determinación de virus Y<sup>n</sup>, utilizando tubérculos provenientes de plantas con infección secundaria.
2. Averiguar si la mayor concentración del virus está en la zona de los brotes o en las zonas del estolón del tubérculo, y a qué distancia de ellos, mediante cortes de 2 mm de espesor.
3. Cuál es la temperatura óptima a que deben conservarse los tubérculos en período de latencia, antes de usarlos como inóculo.
4. Determinar la influencia que tiene la herida o corte del tubérculo sobre la activación del virus, y cuánto demora éste en manifestarse.

Para estos propósitos, se usaron tubérculos provenientes de plantas con infección secundaria del virus Y<sup>n</sup> de la variedad Record (cultivada en invernadero) y de la variedad Gineke (cultivada en el campo), que estaban en período de latencia.

El método empleado consistió en cortar un trozo de

<sup>1</sup>Investigación realizada en el Instituto de Investigaciones Fitopatológicas (I.P.O.) en Wageningen, Holanda. 1964-65. Beca FAO.

Fecha recepción manuscrito: 29 de julio de 1966

<sup>2</sup>Ingeniero Agrónomo, Proyecto Fitopatología, Estación Experimental La Platina, Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Profesor Cátedra Fitopatología General, Facultad de Agronomía Universidad Católica de Chile y Profesor Asociado Cátedra Fitopatología, Facultad de Agronomía, Universidad Católica de Valparaíso.

<sup>3</sup>Fórmula Rindite:

Cloruro etilénico	7 p.
Dicloroetano	3 p.
Tetracloruro de carbono	1 p.

tubérculo de 4 mm de espesor, en la corona o zona de los brotes y en el estolón, frotando posteriormente el exudado de la herida sobre hojas amputadas de Sd. A<sub>6</sub>, que fueron cortadas circularmente con un sacabocados de 4 cm de diámetro, para comparar superficies iguales de inoculación. Para este efecto, los trozos circulares de hojas fueron cortados en 2 partes iguales, inoculando una con tubérculo y la otra con jugo savial de plantas con infección secundaria de virus Y<sup>n</sup>. El propósito de esto fue comparar el número y la forma de las lesiones locales producidas en ambos casos, tomando como testigo la mitad inoculada con jugo savial. Las inoculaciones se realizaron previo espolvoreo de carborundum de 400 mesh sobre las hojas de Sd. A<sub>6</sub>, para facilitar la penetración del virus.

En un caso, y de acuerdo al tratamiento, los cortes en los tubérculos se hicieron antes de guardarlos a determinadas temperaturas, para cortar nuevamente una sección de 2 mm en el momento de la inoculación, después de un período previamente fijado. En otros casos, los tubérculos fueron guardados sin corte alguno a temperaturas diferentes y fueron cortados solamente cuando se procedió a frotarlos sobre Sd. A<sub>6</sub>.

Se contó también con tratamientos, en los cuales los tubérculos recibieron repetidos cortes de 2 mm de espesor, para determinar la zona de mayor concentración del virus.

Los tubérculos de los diferentes tratamientos de cortes, fueron sometidos a temperaturas de 20°, 25° y 30°C, y el período de conservación varió de 2 a 16 días.

Las hojas de Sd. A<sub>6</sub>, una vez inoculadas, fueron mantenidas en cámara húmeda, a una temperatura de 24°C y a una intensidad de luz de 1.500 lux.

La concentración del virus Y<sup>n</sup> en los tubérculos se determinó mediante el recuento comparativo de las

lesiones locales producidas en la mitad inoculada con tubérculo con la otra mitad inoculada con jugo savial, que se utilizó como testigo.

## b) RESULTADOS

Los resultados obtenidos, tanto con los tubérculos de la variedad Gineke como de la Record, pueden resumirse en los siguientes puntos:

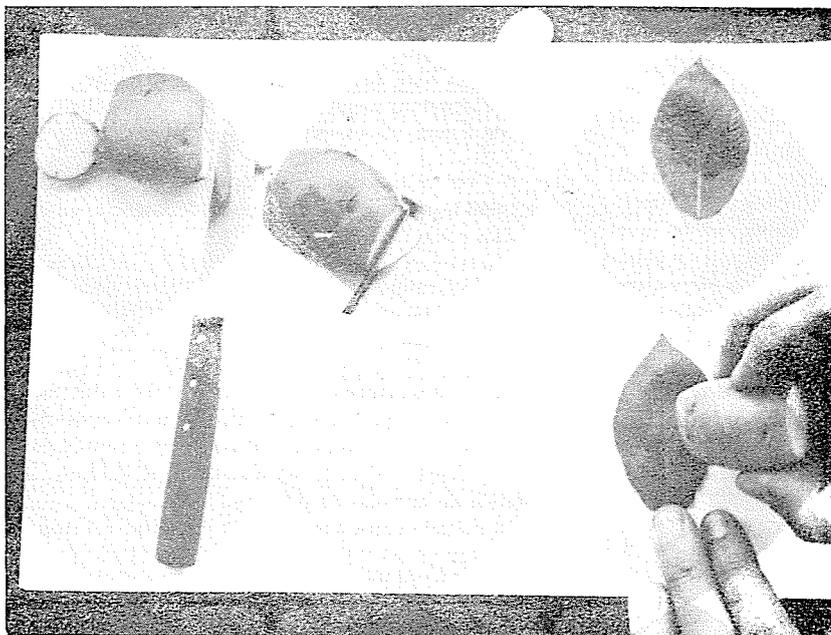
— El mayor número de lesiones se produjo siempre, cuando se usó como inóculo la zona de los brotes de los tubérculos, en la región inmediatamente vecina al corte inicial.

— Todos los tubérculos que fueron cortados y mantenidos posteriormente a 20°C antes de la inoculación, produjeron mayor número de lesiones locales, que aquellos que, en iguales condiciones estuvieron a 25 y 30°C, de los cuales, un 12% no produjo lesiones locales.

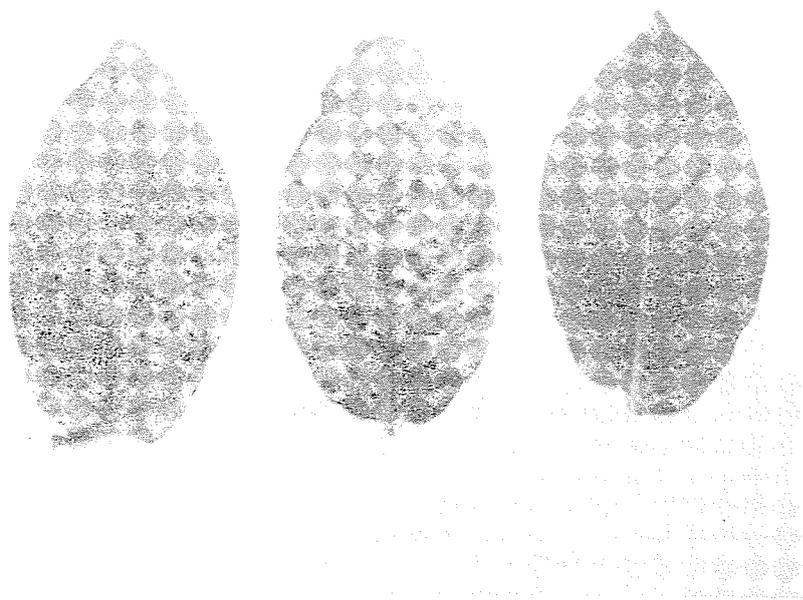
— Con un período de conservación que varió entre 10 y 14 días a 20°C, para los tubérculos previamente cortados en la corona y estolón, se obtuvo la mayor cantidad de lesiones locales, en todas las hojas inoculadas.

En síntesis, la diagnosis de virus Y<sup>n</sup> directamente de tubérculos de papas provenientes de plantas con infección secundaria fue posible cuando se aplicó el siguiente método:

1. Eliminación de un trozo de 4 mm de espesor en la zona de los brotes y del estolón de los tubérculos.
2. Conservación posterior de los tubérculos cortados, durante 10 a 14 días a 20°C.
3. Inoculación en hojas amputadas de Sd A<sub>6</sub>, con el exudado de la herida resultante del nuevo corte de la parte suberizada en la zona de los brotes, manteniendo las hojas inoculadas en cámara húmeda a 24°C y a una intensidad de luz de 1.500 lux.



Técnica empleada para inocular virus Y<sup>n</sup> de la papa directamente de tubérculos, sobre hojas amputadas de *Solanum demissum* A<sub>6</sub>. (Foto: V. Sandoval).



Lesiones locales de virus Y<sup>n</sup> en hojas amputadas de *Solanum demissum* A.<sub>0</sub>. De izquierda a derecha: hoja inoculada con savia; hoja inoculada con tubérculo, y hoja sin inoculación. (Foto: V. Sandoval).

Después de 5 días, todas las hojas inoculadas produjeron las típicas lesiones locales causadas por Virus Y<sup>n</sup>, en número similar a las correspondientes mitades testigos.

Resultó evidente, que durante el período de latencia de los tubérculos, el virus permaneció inactivo con una concentración semejante en ambos extremos, pero al causarles una herida (corte de la corona y estolón) se provocó su activación, con el consiguiente aumento de su concentración y el inmediato movimiento hacia los brotes. Con temperaturas superiores a 20°C, la actividad del virus fue notablemente inferior, lo que se tradujo en la producción de un bajo número de lesiones locales o simplemente ausencia de ellas.

Los resultados obtenidos indican claramente que este método es apropiado para determinar la presencia de virus Y<sup>n</sup>, directamente en tubérculos con infección se-

cundaria, y que comparado con el "Tuber-index" es más sencillo y de menor costo.

De todas maneras, para llevar este método a una utilización práctica, deberá estudiarse si estos resultados se cumplen con tubérculos de plantas con infección primaria de virus Y<sup>n</sup>. Para este efecto, es importante tener presente el resultado de De Boxk (3), quien comprobó que virus Y<sup>n</sup> puede ser detectado en tubérculos en formación, cuando el tiempo transcurrido entre la inoculación del virus en la planta y el de la cosecha de los tubérculos es suficientemente largo. Además, habrá que tomar en cuenta las investigaciones de Beemster (1), que han demostrado que las diferentes especies de virus de la papa, se distribuyen desuniformemente en tubérculos provenientes de planta con infección primaria, afectando, en consecuencia, solamente algunos brotes.

## RESUMEN

La diagnosis de virus Y<sup>n</sup> de la papa, directamente de tubérculos provenientes de planta con infección secundaria, fue posible, cuando se aplicó el siguiente método:

1. Eliminación de un trozo de 4 mm de espesor, en la zona de los brotes y del estolón de los tubérculos.
2. Conservación de los tubérculos cortados durante 10 a 14 días a 20°C.
3. Inoculación de hojas amputadas de *Solanum demissum* A.<sub>0</sub> con el exudado de la herida resultante del nuevo corte de la parte suberizada, en la zona de los brotes, manteniendo las hojas inoculadas en cámara húmeda a 24°C., y a una intensidad de luz de 1.500 lux.

La infección de Virus Y<sup>n</sup> se observó en todos los tubérculos usados como inóculo, habiéndose comprobado, en base al recuento compartivo de las lesiones locales producidas, que la concentración de virus Y<sup>n</sup>, en la zona de los brotes de los tubérculos, fue similar a la que se encuentra en las hojas de una planta con infección secundaria.

## S U M M A R Y

The diagnosis of potato virus Y<sup>n</sup>, directly from tubers of secondarily infected potato plants, was carried out by the following method:

1. Cutting off a 4 mm piece from each end of the tubers.
2. Storage of the cut tubers from 10 to 14 days at 20°C.
3. Inoculation on *Solanum demissum* A<sub>6</sub> leaves, with the exudate of the new cut at the sprout end. The inoculated leaves were stored in a wet chamber at 24°C., and a light intensity of 1.500 lux.

The infection of potato virus Y<sup>n</sup> was observed in all the tested tubers. The comparative counting of the local lesion produced on the inoculated leaves, proved that the concentration of the virus at the sprout end of the tubers was similar to that of the leaves of the secondarily infected potato plants.

## LITERATURA CITADA

1. BEEMSTER, A. B. R. Transport van X-Virus in de Aardappel (*Solanum tuberosum* L) bij Primaire Infectie. Med. I. P. O. Nr. 170: 240-244. 1958.
2. BOXK, J. A. de Het Toetsen van Aardappelknollen op de Aanwezigheid van Y<sup>n</sup> Virus T. Pl. Ziebtien 67: 333-342. 1961.
3. ————— Detection of Potato Virus Y<sup>n</sup> by Means of Test Plant. Med. I. P. O. Nr. 342: 78-79. 1964.
4. DENNY, F. E. Synergistic Effects of Three Chemicals in the Treatment of Dormant Potato Tubers to Hasten Germination. Contrib. Boyce Thompson Inst. 14: 1-4. 1945.
5. NIENHAUS, F. Untersuchungen Über Infection, Vermehrung und Nachweis des Kartoffel-Y-Virus in Kartoffel Knollen Verschiedener Sorten. Proc. Fourth Conf. Potato. Virus Dis. Braunschweig. 99-105. 1960.
6. ROZENDAL, A. Las Enfermedades de Virus de la Papa. Dictamen Internacional de la producción y certificación de papas de siembra, FAO. 2-9. 1961.
7. SINNEMA, A. Métodos de Laboratorio Utilizados en las Inspecciones de Campo de la Papa para Semilla. Dictamen Internacional de la producción y certificación de papas de siembra, FAO. 2-7. 1961.

## LITERATURA CONSULTADA

HOLLING, M. y STONE, Q. M. The Relative Sensitivity of Different Methods of Detecting Viruses. Ann. Rep. Glasshouse Crops. Res Inst. Littlehampton. p. 76. 1961.

ROSS, A. P. *Physalis floridana* as a Local Lesion Test Plant For Potato Virus Y. Phytopathology 43: 1-8. 1953.

SCHEPERS, A. Contact-Infectie bij Y<sup>n</sup>-Virus. Med NAK. 20: 87. 1964.

YARWOOD, C. F. Mechanical Transmission of Plant Viruses. Advance Virus Res. 4: 243-278. 1957.

## Deficiencia de boro en suelos de Confluencia, provincia de Ñuble, detectada mediante sintomatología externa de vides cepa País<sup>1</sup>

Federico Kocher G.<sup>2</sup>, Aurelio Villalobos P.<sup>3</sup> y Jorge Valenzuela B.<sup>3</sup>

En el informe HEWITT<sup>1</sup> se analizan las posibles causas que están afectando la producción vitícola de las provincias de Maule, Ñuble y Concepción. Una de las principales alternativas estaría relacionada con problemas nutricionales en que, por la sintomatología externa de las plantas, se planteó la hipótesis que sería el boro el elemento causante del problema denominado "enfermedad del sur".

Asumiendo que esta hipótesis era correcta, se desarrolló una investigación tendiente a reproducir, en condiciones controladas, la sintomatología observada en la zona problema. Con este objeto, a fines del otoño de 1965, se colectaron sarmientos de cepa País provenientes de las zonas norte y sur. Las estacas de la zona norte se obtuvieron de plantas sanas, por lo menos de 100

<sup>1</sup>Recepción manuscrito: 23 de septiembre de 1966.

<sup>2</sup>Ingeniero Agrónomo, Ph. D. Profesor de la Cátedra de Fruticultura General de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Chile. Proyecto Fisiología Vegetal del Instituto de Investigaciones Agropecuarias, por convenio Escuela de Agronomía-Instituto.

<sup>3</sup>Ingenieros Agrónomos, Proyecto Fisiología Vegetal, Estación Experimental La Platina, Instituto de Investigaciones Agropecuarias.

<sup>4</sup>HEWITT, W. B. Informe al Gobierno de Chile sobre las enfermedades y otros problemas de los viñedos chilenos. Programa ampliado de Asistencia Técnica. FAO N° 1962, Roma, 1965.