

# Enfermedad del ají y pimiento causada por el virus Y de la papa<sup>1</sup>

Alicia Bruna de Tosso<sup>2</sup>, Vincent Santilli<sup>3</sup> y Romilio Espejo<sup>4</sup>

## INTRODUCCION

En prospecciones efectuadas durante 1972 en las zonas de La Serena, Ovalle y Salamanca, se observaron plantaciones de ají y pimiento mostrando síntomas característicos de una enfermedad virosa que está atacando, en gran escala, esos cultivos tanto en el campo como bajo invernaderos de plástico.

<sup>1</sup>Recepción originales: 23 de abril de 1973.

<sup>2</sup>Ing. Agr., M. S., Servicio Agrícola y Ganadero (SAG).

<sup>3</sup>Profesor de Biología, Ph. D., Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Casilla 653, Santiago, Chile.

<sup>4</sup>Bioquímico, Comité de Investigaciones Tecnológicas, CORFO.

Las plantas enfermas presentaban mosaico foliar, enanismo y un rendimiento muy inferior al de las plantas sanas.

Dada la vasta dispersión de esta enfermedad a través de la provincia de Coquimbo, donde se concentra el 90% de la superficie total destinada a ají y pimiento, y la grave incidencia que tiene en los rendimientos y calidad de los frutos, la presente investigación tuvo como objetivo la identificación y caracterización del virus causante de esta enfermedad.

## REVISION DE LITERATURA

La literatura mundial proporciona numerosos antecedentes sobre virosis que afectan los cultivos de ají y pimiento. Anderson y Corbett (1957), en Florida, informan que los principales virus que atacan estos cultivos son: virus del grabado del tabaco (TEV), virus Y de la papa (PVY), mancha anular del áster (ARSV) y mosaico del pepino (CMV).

Nagai y Smith (1968), señalan al PVY y al TEV como las principales enfermedades virosas en los pimientos de California. Sakimura (1953), a su vez, determina la presencia de PVY en Hawaii.

Otros autores, como Gamez (1962), en Costa Rica, Nitzany y Tanne (1962), en Israel y Gracia *et al.* (1969), en Argentina, coinciden en considerar al PVY como la enfermedad virosa de mayor incidencia en pimiento, seguido en orden descendente por CMV, TEV y mosaico del tabaco (TMV).

Simons (1956), menciona para el sur de Florida el mosaico del bandeado de las nervaduras (PVBM) con caracteres muy semejantes a PVY y a TEV.

En Francia, Marchoux, Marrou y Migliori (1965), describen la presencia de TMV, PVY, CMV y mosaico de la alfalfa (AMV).

En nuestro país, por el contrario, no existen trabajos sobre virosis en pimiento o ají, excepto una mención de un "mosaico" en *Capsicum annum* determinado sólo por sintomatología (Accatino, 1964).

## MATERIALES Y METODOS

La investigación se realizó en la Estación Experimental La Platina del Instituto de Investigaciones Agropecuarias, en el Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y en la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile.

### AISLAMIENTOS DEL VIRUS Y MÉTODO DE INOCULACIÓN.

Se trabajó con los siguientes aislamientos:

1. Plantas de ají (*Capsicum pendulum*) var. Cristal, provenientes de La Serena y Ovalle.
2. Plantas de pimiento dulce (*Capsicum annum*) var. California Wonder, provenientes de Ovalle.
3. Plantas de pimiento para deshidratar (*C. annum*), tipo húngaro y español, provenientes de Salamanca y Ovalle.

Cada aislamiento se mantuvo separadamente en plantas de *Nicotiana glutinosa* L. y *Nicotiana tabacum* L. variedad White Burley. El inóculo se obtuvo macerando hojas de plantas enfermas con agua destilada y filtrando

luego con gasa húmeda. Las inoculaciones se realizaron en invernadero, con temperatura controlada (21-25°C). Se espolvorearon las hojas con carborundum malla 400 y se frotaron suavemente con una tórula de algodón humedecido con el inóculo. Posteriormente se lavaron las hojas inoculadas con agua destilada.

### TRANSMISIÓN MECÁNICA A HUÉSPEDES DIFERENCIALES.

Todos los aislamientos del virus produjeron síntomas idénticos al ser inoculados en los huéspedes diferenciales seleccionados, por lo cual el inóculo utilizado para los ensayos posteriores se obtuvo de plantas de ají variedad Cristal. La selección de los huéspedes diferenciales se basó en un análisis bibliográfico de todos los virus de transmisión mecánica que infectan naturalmente al ají y pimiento y de las plantas más adecuadas para ponerlos de manifiesto (Gracia *et al.*, 1969) (Nagai y Smith, 1968) (Smith, 1957).

Para las primeras inoculaciones con material traído del campo se usaron:

- Capsicum annum* L. (pimiento), variedad California Wonder;
- Capsicum pendulum* Willd. (ají), variedad Cristal;
- Cucumis sativus* L. (pepino), variedad Marketer;
- Datura stramonium* L. (chamico);
- Gomphrena globosa* L.;
- Nicotiana glutinosa* L.;
- Nicotiana tabacum* L. (tabaco), variedad White Burley;
- Phaseolus vulgaris* L. (frijol), variedad Pinto, y
- Vigna sinensis* Endl. (caupi).

Se inocularon 6 plantas de cada especie y se dejó una como testigo. Estas inoculaciones se repitieron 4 veces para cada especie y variedad usada, en las condiciones experimentales ya descritas.

Posteriormente, con el fin de completar la identificación del virus se utilizaron, además, los siguientes huéspedes diferenciales:

- Capsicum frutescens* L. (ají), variedad Tabasco;
- Chenopodium amaranticolor* Coste y Reyn;
- Datura metel* L.;
- Lycopersicon esculentum* Mill.;
- Nicandra physaloides* Gaertn.;
- Nicotiana tabacum* L. (tabaco), variedad Sam-sun;
- Petunia hybrida* Vilm. (petunia);
- Physalis peruviana* L.;
- Solanum nigrum* L., y
- Zinnia elegans* Jacq. (zinia).

Asimismo se utilizó el método de la hoja amputada al inocular el híbrido de *Solanum demissum* (*Solanum demissum* × *Solanum tuberosum* variedad Aquila), denominado A6, según el método usado por De Bokx y Ghaffari (1969). Las pruebas de recuperación del virus, a partir de los huéspedes diferenciales se realizaron en *Nicotiana glutinosa*.

#### PROPIEDADES FÍSICAS.

Se determinó el "Punto de Inactivación Termal" (PIT) y el "Punto de Dilución Final" (PDF), de acuerdo a métodos estandarizados originalmente propuestos por Johnson y Grant (1932); se usó A6 como huésped indicador.

Para establecer el PIT, el inóculo de tabaco infectado, se colocó en capilares que se sellaron en ambos extremos y se sumergieron en agua caliente durante 10 minutos. Al retirarlos, se los enfrió rápidamente y se inoculó en hojas de A6. Las temperaturas usadas fueron 45, 50, 55, 56, 58, 60 y 65°C.

El PDF se determinó diluyendo el jugo de tabaco infectado con agua destilada en las diluciones: 1:1, 1:10, 1:100, 1:1.000, 1:10.000, 1:100.000 y 1:1.000.000.

#### PRUEBAS SEROLÓGICAS.

Las técnicas serológicas usadas fueron la microprecipitación de van Slogteren (1955) y la de doble difusión en el gel de agar de Ouchterlony, adaptada a virus vegetales por van Slogteren (1955a). Para esta última técnica se utilizó un medio preparado con Bacto-agar al 0,85%, cloruro de sodio al 0,85% y azida de sodio al 0,1% en agua destilada. Se agregó 12 ml de este medio a cada disco Petri, dejando un orificio central y 6-8 orificios periféricos de 5 mm de diámetro, colocados a 5 mm uno de otro.

El inóculo usado se trató con una solución tampón de etanolamina y HCl, pH 10,5, según la técnica de Purcifull y Gooding (1970), para degradar las partículas de virus y facilitar su difusión en el agar. Esta técnica de degradación se utilizó en 2 formas distintas.

#### Método A.

Consistió en macerar el tejido infectado, con la solución tampón (1 g/2 ml) filtrando el jugo obtenido y dejándolo reposar 2 horas antes de usar.

#### Método B.

Consistió en macerar el tejido infectado con H<sub>2</sub>O destilada (1 g/2 ml) y filtrar el jugo. Luego se centrifugó por 30 minutos a 2.500 g y los "pellets" fueron resuspendidos en

la solución tampón (0,5 ml/g tejido). Se dejó reposar 2 horas.

Los antisueros usados en este trabajo, específicos para mosaico de la alfalfa (AMV), virus X de la papa (PVX), virus Y de la papa (PVY), virus del grabado del tabaco (TEV) y mosaico del tabaco (TMV), fueron proporcionados por el Ingeniero Agrónomo Luis Salazar, del Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú. También se usó suero para PVY proveniente de Holanda. Cada prueba serológica se repitió 3 veces.

#### MICROSCOPIA ELECTRÓNICA.

Para las observaciones y fotografías del virus en estudio se utilizaron los microscopios Siemens Elmiskop I y Phillips EM 300, usando láminas negativas con ácido fosfotúngstico al 0,1% (Brenner y Horne, 1959). Las muestras infectadas con virus fueron obtenidas de *Nicotiana glutinosa*, extrayéndose algunas gotas de savia, las que se colocaron sobre las grillas. Después de algunos segundos, se succionó el líquido con papel filtro y se lavó la superficie de las grillas con una solución de acetato de amonio 0,1 M por 1/2 minuto; se extrajo la solución con papel filtro y se dejó flotar las grillas en una solución de ácido fosfotúngstico 0,1%, pH 7,0 por varios segundos.

El microscopio electrónico se utilizó a un voltaje de 80 kv y las fotografías se tomaron con aumento de 20.000 a 40.000 veces.

El largo de las partículas se determinó proyectando las microfotografías en papel y usando un integrador lineal (linear integrator).

## RESULTADOS Y DISCUSION

#### REACCIÓN EN HUÉSPEDES DIFERENCIALES.

Los síntomas obtenidos en las distintas especies y variedades usadas, así como los días que éstas demoran en manifestar la reacción se consignan en el Cuadro I.

Inoculaciones periódicas en plantas de *Cucumis sativus* var. Marketer, *Datura stramonium*, *Gomphrena globosa* y *Vigna sinensis* dieron siempre reacciones negativas, lo que indicó la ausencia de CMV y PVX en el material infectado (Smith, 1957).

Las reacciones del inóculo en *Capsicum frutescens* var. Tabasco, *Nicotiana glutinosa* y *Phaseolus vulgaris* var. Pinto eliminaron la posibilidad de TEV y TMV como los agentes patógenos (Fernández Valiela, 1969).

*Zinnia elegans* no se infectó, descartando la presencia del virus del bandeado de las nervaduras (Simons, 1956).

*Chenopodium amaranticolor*, el clon de papa A6 (Figura 1) y *Nicandra physaloides* reaccionaron con lesiones locales necróticas, típicas para PVY (Delgado-Sánchez y Grogan, 1970).

Los síntomas observados en *Capsicum annum*, *C. frutescens*, *C. pendulum*, *Datura metel* (Figura 2), *Lycopersicon esculentum*, *Ni-*

*cotiana glutinosa* (Figura 3), *Nicotiana tabacum* (Figura 4) y *Petunia hybrida* son similares a los descritos como característicos para PVY por Anderson y Corbett (1957), Costa y Alves (1950), Gracia *et al.* (1969), Nitzany y Tanne (1962), Simons (1956) y Zabala y Delle Coste (1946).

El virus fue recuperado de todos los huéspedes

Cuadro 1 — Síntomas producidos por el inóculo en estudio en diferentes huéspedes diferenciales.

Huésped	Síntomas	Duración período incubación
<i>Capsicum annum</i> var. California Wonder	S.S.: aclaramiento de nervaduras, mosaico, enanismo.	12 - 15
<i>Capsicum frutescens</i> var. Tabasco	S.S.: mosaico.	5
<i>Capsicum pendulum</i> var. Cristal	S. S.: aclaramiento de nervaduras, mosaico, enanismo.	12 - 15
<i>Chenopodium amaranticolor</i> Clon de papa A 6	S.L. <sup>2</sup> : lesiones necróticas.	5
<i>Cucumis sativus</i> var. Marketer	S.L.: lesiones necróticas.	3
<i>Datura metel</i>	Sin síntomas.	
<i>Datura stramonium</i>	S.S.: aclaramiento de nervaduras, mosaico, ampolladura.	15
<i>Gomphrena globosa</i>	Sin síntomas.	
<i>Lycopersicon esculentum</i>	Sin síntomas.	
<i>Nicandra physaloides</i>	S.S.: aclaramiento de nervaduras, mosaico, ampolladura.	15
<i>Nicotiana glutinosa</i>	S.L.: lesiones necróticas.	5-6
<i>Nicotiana tabacum</i> var. Samsun	S.S.: lesiones necróticas y mosaico suave.	15
<i>Nicotiana tabacum</i> var. White Burley	S.S.: aclaramiento de nervaduras, mosaico.	6
<i>Petunia hybrida</i>	S.S.: aclaramiento de nervaduras, mosaico.	6
<i>Phaseolus vulgaris</i> var. Pinto	S.S.: aclaramiento de nervaduras, mosaico suave, alteración del color de las flores.	6 - 12
<i>Physalis peruviana</i>	Sin síntomas.	
<i>Solanum nigrum</i>	S.L.: lesiones necróticas.	5
<i>Vigna sinensis</i>	S.S.: mosaico apical, necrosis, muerte.	15
<i>Zinnia elegans</i>	Sin síntomas.	

<sup>1</sup>S.S. = Síntomas sistémicos.

<sup>2</sup>S.L. = Síntomas locales.

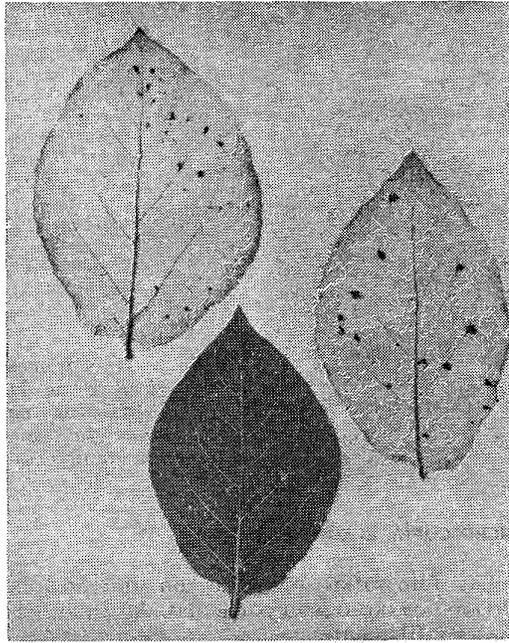


Figura 1 — Síntomas del virus Y de la papa: lesiones locales en A 6; abajo, testigo sano.

des que presentaron síntomas en *N. glutinosa*.

No se evidenció infección en *D. stramonium*, *G. globosa* y *S. nigrum*, confirmándose así que el inóculo en estudio corresponde a virus Y de papa (Gracia *et al.*, 1969; Smith, 1957).

PROPIEDADES FÍSICAS.

**Punto de inactivación termal.** Los resultados obtenidos en la prueba de inactivación

termal del virus Y de papa se presentan en el Cuadro 2.

De acuerdo a los resultados obtenidos, el virus se inactiva al someterlo durante 10 minutos a 60°C.

**Punto de dilución final.** El virus fue infectivo a la dilución 1:10.000, pero no a la dilución 1:100.000.

Las propiedades físicas del aislamiento en estudio son similares a las señaladas por Darby, Larson y Walker (1951) y por Salazar (1971) para razas de PVY aisladas de papa, y por Gamez (1962) para PVY aislado de pimiento.

PRUEBAS SEROLÓGICAS.

En el Cuadro 3 se dan los resultados de la prueba de microprecipitación que se efectuó para confirmar la identidad del virus aislado.

Cuadro 2 — Punto de inactivación termal.

Temperatura	45°C	50°C	55°C	56°C	58°C	60°C	65°C
Reacción <sup>1</sup>	+	+	+	+	+	-	-

<sup>1</sup>El signo + significa formación de lesiones locales en el clon de papa A6.

Cuadro 3 — Reacciones de microprecipitación con virus aislado de ají.

Fuente antígeno	Antiserosos				
	PVX	PVY	TEV	TMV	Normal
<i>C. pendulum</i>	-	+	-	-	-
<i>N. tabacum</i> var.	-	+	-	-	-
White Burley	-	+	-	-	-

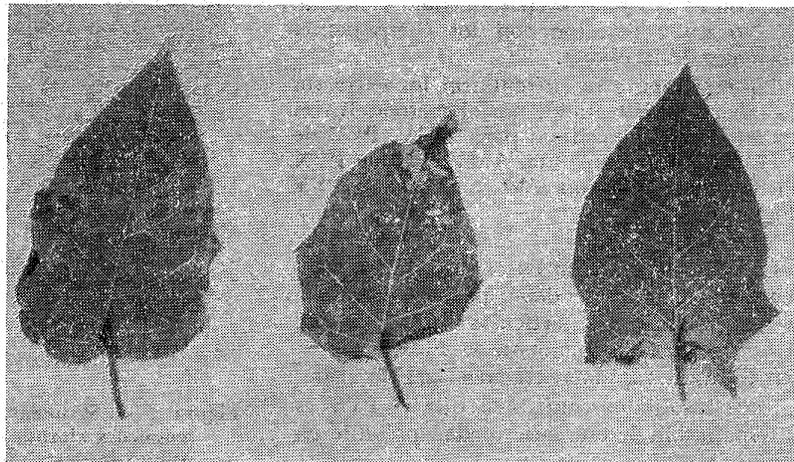


Figura 2 — Síntomas del virus Y de la papa: mosaico intenso y deformación en *Datura metel*; derecha, testigo sano.

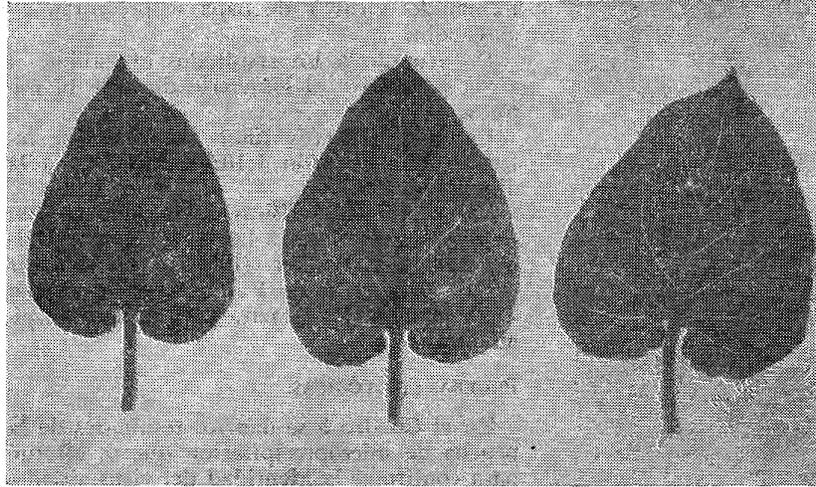


Figura 3 — Síntoma del virus Y de la papa; mosaico en *Nicotiana glutinosa* derecha, testigo sano.

Todas las reacciones de microprecipitación fueron positivas para virus Y de papa.

Los controles con suero normal reaccionaron negativamente, dando validez a la prueba serológica.

Al efectuar las pruebas de difusión en agar, ensayos preliminares con jugo clarificado de plantas enfermas dieron resultados negativos para PVY.

Los extractos tratados con solución tampón de etanolamina y HCl (ETA), provenientes de plantas infectadas de tabaco y ají, dieron líneas de precipitación frente al antisuero PVY, a diferencia de los extractos no tratados que no dieron reacción. Los inóculos preparados por los métodos A y B dieron líneas de precipitación equidistantes entre la posición del suero anti-PVY y los antígenos, a las 24 horas de efectuada la prueba (Figura 5). La banda de precipitación fue algo más marcada con el antígeno preparado por el método B que con el antígeno preparado por el método A. No hubo reacción con los componentes normales de la planta.

Posteriormente se enfrentaron los extractos de tabaco y ají tratados por el método B con los antisueros específicos para TMV, PVY de Perú y PVY de Holanda, AMV, TEV y PVX observándose reacción sólo con el suero PVY (Figura 6).

La falta de reacción en el caso de los antígenos no tratados se debe, probablemente, a la agregación de las partículas virosas, las que al ser tratadas alcalinamente se separan y pueden difundir rápidamente en el gel de agar.

Estos resultados confirman que el PVY es el responsable de esta enfermedad presente en pimiento y ají.

#### MICROSCOPIA ELECTRÓNICA.

Las fotografías tomadas con microscopio electrónico mostraron partículas alargadas, flexibles y filamentosas.

Cuarenta y siete partículas fueron seleccionadas al azar y medidas. La mayor concentra-

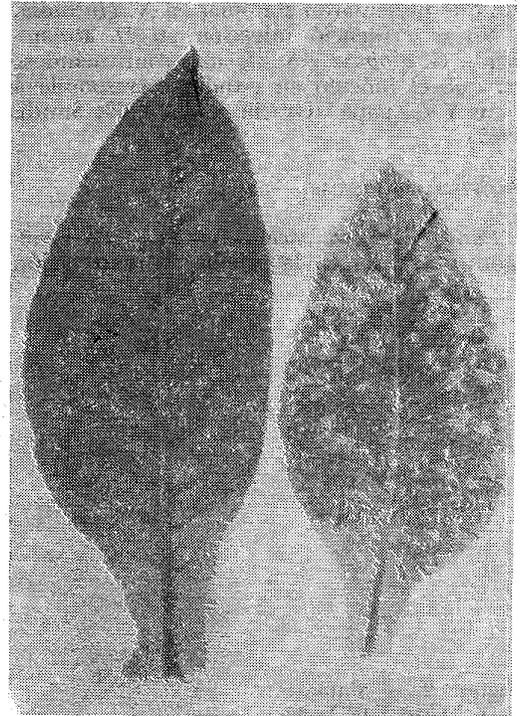


Figura 4 — Síntomas del virus Y de la papa mosaico y clorosis en *Nicotiana tabacum* var White Burley; izquierda, testigo sano.

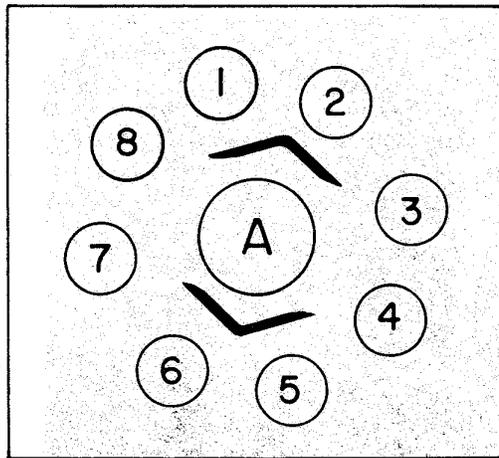


Figura 5 — A, antisuero PVY; 1 y 5 antígenos infectados de tabaco y ají, respectivamente, tratados con etanolamina (método A); 2 y 6 antígenos infectados de tabaco y ají, respectivamente, tratados con etanolamina (método B); 3 y 7 antígenos infectados de tabaco y ají, respectivamente, sin tratar; 4 y 8 antígenos sanos de tabaco y ají, respectivamente.

ción de partículas se obtuvo en el rango de 700-900 nm, constituyendo un 64% de las partículas totales (Figura 7). Entre los rangos de 74-700 nm y 900-1.625 nm sólo se encontraron partículas aisladas, no habiendo más de dos por cada espacio de 25 nm. Las escasas partículas encontradas, ya sea bajo los 700 nm o sobre los 900 nm se consideraron restos de partículas o agregados, respectivamente, y no se consideraron para calcular el largo promedio, que correspondió a  $788 \pm 44$  nm.

De acuerdo al largo y la forma de la partícula, se determinó que el virus en estudio está comprendido en el grupo del virus Y y corresponde específicamente al virus Y de la papa (Brandes y Bercks, 1965; Varma *et al.*, 1968).

El ancho de las partículas fue variable aun dentro de la misma partícula, por lo que no se intentó su determinación.

No se tiene ninguna explicación para este hecho, excepto que se ha notado que las partículas reunidas en haces poseen diámetros mucho menores, generalmente la mitad, que aquellas partículas aisladas, como puede apreciarse en la fotografía (Figura 8) en donde aparecen partículas aisladas y un haz de ellas en el extremo inferior izquierdo.

Esto se ha observado también en partículas de virus del mosaico de la sandía (WMV-2) obtenidas de plantas de melón (*Cucumis melo* L.) de la variedad Honey Dew, preparada en una forma semejante (Bruna y Santilli, no publicado). Esto sugiere que el mayor diámetro de las partículas aisladas y libres puede deber-

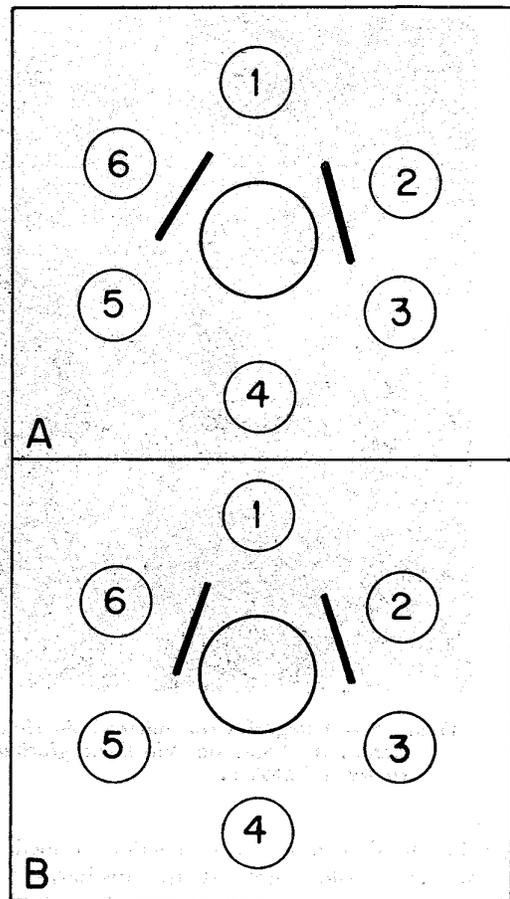


Figura 6 — El orificio central contiene: A) antígeno de tabaco infectado, tratado con etanolamina (método B); B) antígeno de ají infectado, tratado con etanolamina (método B); Los orificios periféricos contienen: 1, antisuero TMV; 2 y 6, antisueros PVY, de Perú y Holanda, respectivamente; 3, antisuero AMV; 4, antisuero TEV; 5, antisuero PVX.

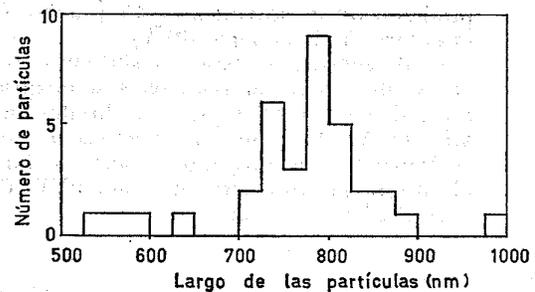


Figura 7 — Distribución de frecuencia de las partículas de virus Y de la papa, según su longitud.

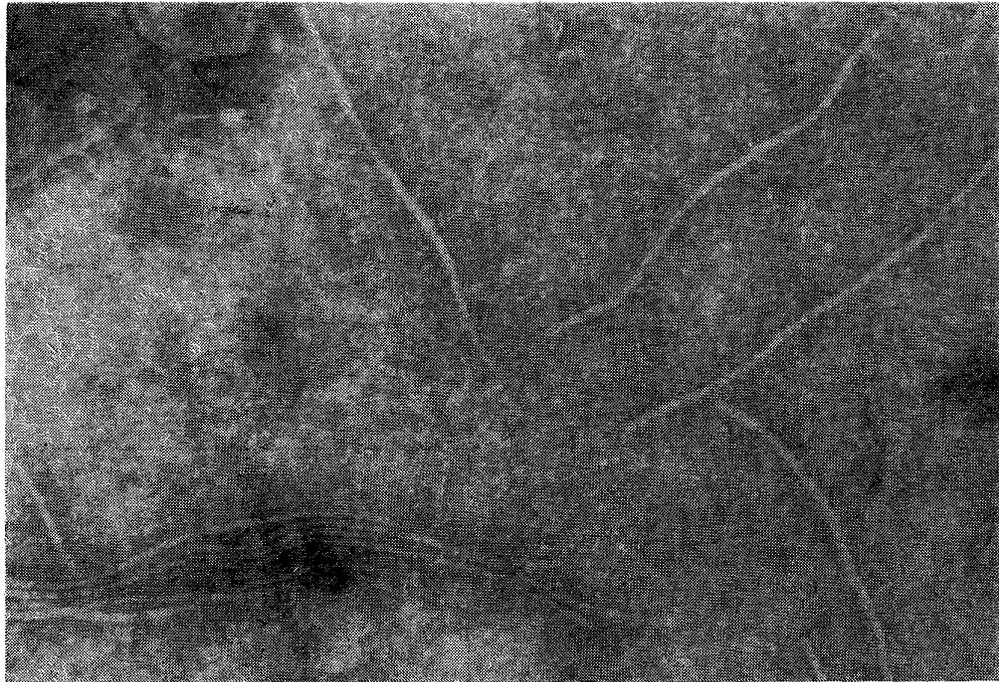


Figura 8 — Fotografía con microscopio electrónico de partículas de virus Y de la papa, provenientes de hojas de *Nicotiana glutinosa* inoculadas con extracto de ají infectado. Aumento 90.000 x.

se a la adhesión de las proteínas del huésped, lo que ocurre sólo después de que los haces se han separado. Ello implica que en el huésped las partículas virosas se acumulan primero en haces, posiblemente envueltos por una membrana, tal como lo expresa Markham (1968) para PVY.

De los resultados obtenidos en las pruebas de transmisión mecánica, serología, propiedades físicas y microscopía electrónica, se identificó al virus Y de la papa (*Solanum virus 2*, Smith) como el causante de la virosis que afecta a las plantas de ají y pimiento en la provincia de Coquimbo.

#### RESUMEN

Se estudió una enfermedad virosa que atacó intensamente a los cultivos de ají y pimiento de la provincia de Coquimbo, Chile, y se determinó que su agente causal es el virus Y de la papa (PVY).

El diagnóstico se basó en síntomas en huéspedes diferenciales, en las propiedades físicas del virus, en reacciones serológicas y en observaciones al microscopio electrónico. El virus produce lesiones locales de tipo necrótico en el híbrido *Solanum demissum* A6. El punto de inactivación termal es de 60°C, el punto de dilución final es 1:10.000 y el antígeno tratado alcalinamente da una clara línea de precipitación al enfrentarse con antisuero para PVY. El largo promedio de las partículas corresponde a  $788 \pm 44$  nm.

#### SUMMARY

A severe virus disease affecting commercial pepper crops in Coquimbo province, Chile, was studied and potato virus Y (PVY) was found to be the causal agent.

The diagnosis was based on differential hosts, serological reactions, physical properties of the virus and electron microscopy. The virus produces necrotic local lesions on *Solanum demissum* A6. The thermal inactivation point is 60°C., the dilution-end point is 1:10.000 and the alkaline-treated antigen gives a well-defined line of precipitate with the PVY antiserum. The average length of the virus particles is  $788 \pm 44$  nm.

## LITERATURA CITADA

- ACCATINO, L., P. 1964. Determinaciones virológicas en el área comprendida entre la provincia de Tarapacá y Llanquihue. Boletín especial N° 22. Min. de Agric. Depto. Invest. Agrícolas. Santiago, Chile. pp. 348-349.
- ANDERSON, C. W. and CORBETT, M. K. 1957. Virus diseases of peppers in Central Florida. Survey results, 1955. Plant Disease Reporter, 41: 143-147.
- BOKX, J. A. and GHAFFARI, H. 1969. Detection of potato viruses X, Y and A by rubbing infected foliage onto A-6-test leaves. Proc. 6<sup>th</sup>. Conf. Czech. Pl. Virol. Olomoue, 1967. pp. 303-308.
- BRANDES, J. and BERCKS, R. 1965. Gross morphology and serology as a basis for the classification of elongated plant viruses. Advan. Virus Res. 11: 1-22.
- BRENNER, S. and HORNE, R. W. 1959. A negative staining method for high resolution electron microscopy of viruses. Biochimica et Biophysica Acta 34: 103-110.
- COSTA, A. S. e S. ALVES. 1950. Mosaico do pimentão. Bragantia 10: 95-96.
- DARBY, J. F., LARSON, R. H. and WALKER, J. C. 1951. Variation in virulence and properties of potato virus Y strains. Wis. Agr. Exp. Sta. Res. Bul. 177: 1-32.
- DELGADO-SÁNCHEZ, S. and GROGAN, R. G. 1970. Potato virus Y. C.M.I., A.A.B. Descriptions of plant viruses N° 37.
- FERNÁNDEZ VALIELA, M. V. 1969. Introducción a la fitopatología. 3ª Edición. Vol 1: Virus. Buenos Aires, Colección Científica INTA. 1011 p.
- GAMEZ, R. 1962. Una enfermedad virosa de los chiles causadas por el virus Y de la papa. Rev. Biol. Trop. 10 (1): 91-97.
- GRACIA, O., FELDMAN, J. M., PONTIS, R. E. y BONINSEGNA, J. 1969. Virus identificados en cultivos de tomate y pimiento de la provincia de Mendoza (Argentina). Rev. Invest. Agrop. INTA. Serie 5, Patología Vegetal. 1: 1-17.
- MARCHOUX, G., MARROU, J. et MIGLIORI, A. 1965. Reaction du poivron (*Capsicum annum* L.) à quelques virus répandus dans les cultures maraichères françaises méridionales. Anns. Epiphyt 16, n. hors-ser, 1: 109-117.
- MARKHAM, R. 1968. Deviations in nitrogen metabolism associated with viruses. In Hewitt, E. J. and Cutting, C. V. (Ed.). Recent aspects of nitrogen metabolism in plants. New York. Academic Press. pp. 203-216.
- NAGAI, H. and SMITH, P. G. 1968. Reaction of pepper varieties to naturally occurring viruses in California. Plant Disease Reporter 52 (12): 928-930.
- NITZANY, F. E. and TANNE, E. 1962. Virus diseases of peppers in Israel. Phytopath. medit. 1: 180-182.
- PURCIFULL, D. E. and GOODING, G. V. Jr. 1970. Immunodiffusion test for potato virus Y and tobacco etch viruses. Phytopath. 60: 1036-1039.
- SAKIMURA, K. 1953. Potato virus Y in Hawaii. Phytopath. 43: 217-218.
- SALAZAR, L. F. 1971. Una raza del virus "Y" de la papa en el Perú. Fitopatología iv: 26-33.
- SIMONS, J. N. 1956. The pepper veinbanding mosaic virus in the Everglades area of South Florida. Phytopath. 46: 53-57.
- SMITH, K. M. 1957. A textbook of plant virus diseases. Little, Brown and company Boston. 2<sup>nd</sup>. edition, 652 p.
- VAN SLOGTEREN, D. H. M. 1955. Serological micro-reactions with plant viruses under paraffin oil. Proc. 2<sup>nd</sup>. Conf. on potato virus diseases. Lisse-Wageningen. pp. 51-54.
- . 1955a. Serological analysis of some plant viruses. Proc. 2<sup>nd</sup>. Conf. on potato virus diseases. Lisse-Wageningen. pp. 45-50.
- VARMA, A., GIBBS, A. J., WOODS, R. D. and FINCH, J. T. 1968. Some observations on the structure of the filamentous particles of several plant viruses. J. Gen. Virol. 2: 107-114.
- ZABALA, S. y DELLE COSTE, A. C. 1946. Identificación del "polvillo del tabaco" con uno de los mosaicos del pimiento. Rev. Arg. Agrom. 13: 167-180.