

**VIRUS DEL ENROLLAMIENTO DE LA HOJA DE PAPA, Y SU
DETECCIÓN EN EL SÍNDROME DE LA PUNTA MORADA**

LIDIA MONSERRAT FLORES TORRES

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGIA AGRÍCOLA

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
PROGRAMA DE GRADUADOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Julio de 2005

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

**VIRUS DEL ENROLLAMIENTO DE LA HOJA DE PAPA, Y SU
DETECCIÓN EN EL SÍNDROME DE LA PUNTA MORADA**

TESIS

POR

LIDIA MONSERRAT FLORES TORRES

**ELABORADA BAJO LA SUPERVISIÓN DEL COMITÉ PARTICULAR DE
ASESORIA Y APROBADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL
GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGIA AGRÍCOLA**

COMITÉ PARTICULAR:

Asesor principal:

M.C. Abiel Sánchez Arízpe

Asesor

Dr. Alberto Flores Olivas.

Asesor

Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo

Asesor

M.C. Víctor Manuel Parga Torres

Asesor

M.C. Antonio Cárdenas Elizondo

Asesor

M.C. Emilio Padrón Corral

**Dr. Jerónimo Landeros Flores
Subdirector de Postgrado**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, Julio de 2005

DEDICATORIA

Le agradezco a Dios por brindarme la oportunidad de dar un paso más en la enseñanza diaria de mi vida.

Le dedico de todo corazón la culminación de esta etapa a mi familia, que siempre ha estado presente cuando más la necesito, porque no me permiten doblegarme ante las adversidades. Con gran cariño para:

Mi madre:

Ma. Magdalena Torres Castañeda

Mis hermanos:

Nancy María Flores Torres

Alberto Flores Torres

Mi esposo:

Abenamar Jordan Zúñiga Álvarez

Mi hija:

Cristel Kassandra Zúñiga Flores

A ellos mil gracias por todo su apoyo y palabras de aliento.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio por haberme brindado la oportunidad de superarme.

Agradezco con sinceridad y aprecio a mis asesores que me apoyaron para la culminación del presente trabajo

M.C. Abiel Sánchez Arizpe.

Dr. Alberto Flores Olivas

Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo

M.C. Víctor Manuel Parga Torres

M.C. Antonio Cárdenas Elizondo

M.C. Emilio Padrón Corral

Agradezco también a mis compañeros de Maestría y Doctorado así como a las responsables de laboratorio que me apoyaron durante mi estancia en el departamento.

COMPENDIO

Virus del enrollamiento de la hoja de papa, y su detección en el síndrome de la punta morada

POR

LIDIA MONSERRAT FLORES TORRES

MAESTRÍA

PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. JULIO, 2005.

M.C. Abiel Sánchez Arizpe -Asesor-

Palabras claves: papa, PLRV, DAS-ELISA, incidencia, severidad

El objetivo del trabajo fue detectar el virus del enrollamiento de la hoja (PLRV), en el síndrome de la punta morada de la papa mediante la técnica DAS-ELISA. La incidencia y severidad de la punta morada se evaluó en plantas de papa de las variedades Gigant y Adora a las que posteriormente se les determinó la presencia o ausencia del virus PLRV en laboratorio; se realizaron cinco muestreos considerando las etapas fenológicas de surco verde, surco cerrado, floración, madurez

y cosecha. Los muestreos se realizaron durante el ciclo primavera-verano del 2004, realizándose en dos localidades del municipio de Galena, Nuevo León, que se localiza a una latitud norte de 25° 3', una longitud oeste de 100° 37' y una altura de 1854 msnm. Se evaluó la severidad de la punta morada en base a una escala diseñada tomando en cuenta los síntomas descritos por Calderoni (1978): 0= Ausencia de la enfermedad, 1= Plantas con tonalidades amarillas, 2= Plantas con tonalidades moradas, 3= Plantas con detención del crecimiento y brotación anormal de yemas axilares, 4= Plantas con engrosamiento de nudos y pequeños tubérculos aéreos, 5= Plantas con necrosis vascular en los tallos y tubérculos, 6= Plantas con apariencia de marchitez y tonalidades amarillentas a morado y muerte prematura. La incidencia se determinó en un total de 90 plantas dentro del área de muestreo. Al final del ciclo del cultivo se obtuvieron 150 muestras en total.

Al final del ciclo del cultivo la incidencia de punta morada se registró hasta el 100 por ciento, a excepción del lote 2 con papa de la variedad Adora muestran una incidencia menor a los demás lotes, sin embargo el grado de severidad alcanzado a la madurez fue del nivel cinco con necrosis vascular en tallos y tubérculos. De las 150 muestras analizadas que se procesaron con síntomas de punta morada 30.6 por ciento fueron positivas al virus del enrollamiento de la hoja, siendo la variedad Gigant la más afectada en cuanto a la presencia del PLRV y para Adora la presencia de este virus fue menor, pero los síntomas de punta morada observados en campo fueron un poco más severos para la variedad Adora. Con estos resultados se estima que la variedad Gigant tuvo mayor presencia de virus que de la variedad Adora con un porcentaje de muestras positivas del 56.5 y 43.5 respectivamente.

ABSTRACT.

Potato leafroll virus, and their detection in the syndrome of the potato purple top.

BY

LIDIA MONSERRAT FLORES TORRES

MASTER IN SCIENCE

AGRICULTURAL PARASITHOLOGY

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. JULY 2005.

M.C. Abiel Sánchez Arízpe -Advisor-

Key words: potato, PLRV, DAS-ELISA, incidence, severity

The objective of the work was to detect the potato leafroll virus in the syndrome of the potato purple top by means of DAS-ELISA technique. Vegetative material of potato of the varieties Gigant and Adora were used to evaluate the incidence and severity of purple top, and the later detection of the PLRV in laboratory; they were carried out five samplings taking into account the development of the cultivation; that goes from green furrow, closed furrow, flourishing, maturity and it harvests. The samplings were carried out during the cycle spring-summer of the

2004, being carried out in two towns of the municipality of Galena, Nuevo Leon that is located to a 25° 3' north latitude, a 100° 37' longitude west and a height of 1854 msnm. The severity of the purple top was evaluated based on a designed scale taking into account the symptoms described by Calderoni (1978): 0 = Absence of the disease, 1 = Appearance of a yellow tonality in the air part of the plant, 2 = The air part of the plant acquires a purple color, 3 = detain the development of the plant and an abnormal brotación of the axillary yolks takes place, 4 = the knots are augmented and small air tubers, 5 = vascular necrosis in the shafts and inside the tuber the vascular ring is also observed necrotic, 6 = the plant withers with a yellowish tone had purple out and the plant dies prematurely. The incidence was determined on a total of 90 plants inside the sampling area. At the end of the cycle of the cultivation 150 samples were obtained in total.

At the end of the cycle of the cultivation the incidence of purple top registered until 100 percent, to exception of the lot 2 with potato of the Adore variety it show a little incidence to the other lots, however the grade of severity reached to the maturity was of the level five with vascular necrosis in shafts and tubers. Of the 150 analyzed samples that were processed with symptoms of purple top 30.6 percent went positive to the potato leaf roll virus, being the Gigant variety the more affected as for the presence of the PLRV and in Adora the presence of this virus it was little, but the symptoms of purple top observed in field were more severe for the Adora variety. With these results is considered that the variety Gigant had bigger virus presence that the variety Adora with a percentage of positive samples of 56.5 and 43.5 respectively

ÍNDICE DE CONTENIDO.

ÍNDICE DE FIGURAS	xi
INTRODUCCIÓN	xii
REVISIÓN DE LITERATURA	1
El cultivo de la Papa	1
Origen y distribución	1
Importancia	2
Principales enfermedades de la papa	2
Virus del enrollamiento de la hoja (PLRV)	4
Importancia y distribución	4
Agente causal	6
Transmisión de PLRV	6
Sintomatología	8
Métodos de diagnóstico	11
Prevención	13
Interacción del PLRV en la punta morada	14
Punta morada de la papa	17
Importancia y distribución	17
Agente causal	19
Transmisión del fitoplasma	20
Características de los vectores	23
Sintomatología	25
Métodos de diagnóstico	28
Control	29

ARTÍCULO CIENTÍFICO

VIRUS DEL ENROLLAMIENTO DE LA HOJA DE PAPA, Y SU DETECCIÓN EN EL SÍNDROME DE LA PUNTA MORADA	30
CONCLUSIONES GENERALES	43
LITERATURA CITADA	44
APENDICE A	49
APENDICE B	53
APENDICE C	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°		Pág.
2.1	Necrosis causada por PLRV en tubérculos	9
2.2	Enrollamiento de folíolos y bordes con coloración púrpura-rojiza	10
2.3	Enrollado y achaparramiento de la planta	10
2.4	Enrollamiento y clorosis de las hojas	26
2.5	Tubérculos aéreos en la planta	26
2.6	Necrosis del tallo y producción de yemas axilares	26
2.7	Manchado de los tubérculos provenientes de plantas con síntomas de punta morada	27

INTRODUCCIÓN

La producción mundial de papa actualmente asciende a 275 millones de toneladas y cubre 18 millones de hectáreas, siendo la Federación Rusa y China los primeros productores a nivel mundial (Izquierdo, 2002). Actualmente en México se siembran alrededor de 67 mil hectáreas. Para el 2001 la producción obtenida fue de 1 millón 635 mil toneladas, con un rendimiento medio actual a nivel nacional de 20.5 ton/ha.

Desafortunadamente estos rendimientos y calidad son afectados por la presencia de enfermedades causadas por hongos, bacterias, nemátodos, virus y fitoplasmas. En la actualidad los productores se han visto perjudicados por la presencia de la punta morada en papa, mencionada por primera vez en México por Niederhauser y Cervantes en 1956, fue observada en el Valle de Toluca, en Guanajuato, en Zamora, Michoacán y en los estados de Puebla y Tlaxcala. García en 1996 señaló que para la década de los noventa en la áreas paperas de Coahuila, Nuevo León, Jalisco y otras zonas, se comenzó a manifestar una enfermedad que ocasionaba amarillamientos, enrollamientos de folíolos de color morado, formación de tubérculos aéreos, necrosis vascular en tallos y tubérculos, lo que actualmente se llama “Síndrome de la Punta Morada de la Papa”. Y que se encuentra prácticamente presente en todos los continentes. A nivel nacional la incidencia de la enfermedad se

ha mantenido en porcentajes altos, para 1993 alcanzó un 30, el 60 en 1994 y hasta el 90 por ciento en 1995 de tubérculos dañados. Durante los años 2003 y 2004, la incidencia de esta enfermedad se incrementó considerablemente, llegando al 100 por ciento en algunas áreas productoras de papa de la región de Coahuila y Nuevo León; la reducción del rendimiento y las pérdidas fueron del 90 y 100 por ciento respectivamente ya que los tubérculos obtenidos no tenían la calidad deseada (Flores, *et al.* 2004).

Según reportes de Jensen (2004) hay un rango de síntomas producidos por el fitoplasma y PLRV que se pueden enmascarar, por su parte el PROINPA (1997) reporta que en algunas zonas productoras de papa se presenta una enfermedad denominada “planta morada” ocasionada por PLRV y cuyos síntomas son muy similares a los que se presentan en el síndrome de la punta morada, como son: enrollamiento prominente de las hojas nuevas y leve amarillamiento y las plantas quedan achaparradas y muestran un crecimiento erecto y firme. El virus se localiza en el floema y en ocasiones es posible observar necrosis vascular en los tallos, peciolo o en tubérculos. Es transmitido a través de los tubérculos de papa para semilla, y en el campo por más de 10 especies de áfidos siendo el más eficiente *Myzus persicae* Zulz. Causa reducciones en la producción de tubérculos del 50 al 80 por ciento. Según Pérez *et. al.* (2004) las pérdidas ocasionadas por este virus en la variedad Alpha y la variedad López fueron del 56 y del 45 por ciento respectivamente. Debido a que las principales medidas de control para contrarrestar los efectos de la punta morada son dirigidas hacia los vectores es necesario que el productor conozca si dentro de este complejo están presentes otros patógenos para que pueda planear una estrategia de

manejo más completa enfocada a todos los agentes involucrados. Por tal motivo es objetivo del trabajo mediante la técnica de DAS-ELISA detectar la presencia del virus del enrollamiento de la hoja en el desarrollo del síndrome de la punta morada en el ciclo del cultivo de papa.

REVISIÓN DE LITERATURA

El cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.)

Origen y distribución

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es originaria de las regiones montañosas andinas de América del Sur. Se han realizado análisis de sitios antiguos y se ha confirmado que la papa ha sido cultivada por más de 8,000 años. Se conocen unas 2,000 especies del género botánico *Solanum*, de los cuales de 160-168 son plantas productivas de tubérculos y ocho especies son cultivadas con fines alimenticios, pero sólo *S. tuberosum* es ampliamente cultivada en el mundo (Rowe, 1993).

Por su parte Rousselle, *et al.* (1999), señalan que las zonas de origen y diversificación se extiende a lo largo de la Cordillera de los Andes desde el norte de Chile hasta Venezuela y, en América Central, hasta el norte de México y sudoeste de los Estados Unidos. Las zonas más ricas en especies son el centro de los Andes (Perú, Bolivia y Ecuador) y el centro de México.

La papa fue introducida a España de América del Sur por el año de 1570. De España la papa fue distribuida hacia algunos países de Europa y en menos de 100

años la papa fue creciendo ampliamente en muchos países de Europa. Posteriormente se distribuyó a la India en 1610, China en 1700 y Japón en 1766. La papa llegó al norte de América por medio de los migrantes en 1700 (Maiti y Singh, 2002).

Importancia

Es uno de los cultivos de mayor importancia en el planeta, por su alto valor nutricional (Rodees, 1982); la producción anual de este cultivo representa aproximadamente la mitad de la producción mundial de todas las raíces y tubérculos (Korschinerk, *et al.*, 1991).

En nuestro país la papa ocupa el cuarto lugar en importancia, superado únicamente por los básicos (maíz, frijol, arroz y trigo), entre las hortalizas sólo los cultivos de jitomate y chile verde ocupan una mayor superficie, pero en cuanto a la producción el jitomate es el único que los supera; para los años 2000 y 2001 el consumo per-cápita en México fue de un promedio de 16.5 kg.

Principales enfermedades de la papa.

La papa al igual que todos los cultivos se ve afectada por una gran cantidad de enfermedades provocadas algunas de ellas por hongos, stramenophilas, otras por bacterias, virus y algunas otras por fitoplasmas. La prevención de la aparición de una enfermedad así como la de su desarrollo y dispersión son un factor de importancia para tener éxito en la producción de papa, considerando entre las más importantes las siguientes:

El tizón tardío que es ocasionados por el alga *Phytophthora infestans* y es de distribución mundial; este patógeno puede afectar tanto la parte aérea como la subterránea de la planta, afectando el tubérculo (Rousselle, 1999). Dentro de los hongos que afectan el cultivo, entre otros, se encuentra *Alternaria solani* que provoca el tizón temprano en la planta afectando tallos y hojas y en menor medida a los tubérculos. La infección suele empezar por las hojas más viejas (Alonso, 1996). *Rhizoctonia solani* es otro patógeno de la papa que ocasiona la enfermedad conocida como costra negra; se presenta en casi todos los suelos y causa daños considerables, especialmente bajo condiciones de humedad y frío, matando brotes subterráneos y retrasando o anulando la emergencia (agrarias.uach). Otra enfermedad de gran importancia en el cultivo de la papa es conocida como pierna negra producida por la bacteria *Erwinia carotovora* que está presente en la superficie de los tubérculos y cuando las condiciones son idóneas, se activa y produce la podredumbre de la semilla antes de la emergencia de las plantas, en los tallos ocasiona una podredumbre de color negro (Alonso, 1996). La papa también es atacada por *Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedomicus* que ocasiona necrosis bacteriana o podredumbre anular de los tubérculos (Smith, 1992). Los virus también afectan a la papa como es el caso del virus Y de la papa (PVY) que la severidad de los síntomas en el follaje de papa difiere en relación con la variante y variedad del cultivo; en algunas variedades el virus Y de la papa-estriado (PVY^c) provoca rayado fino y las plantas infectadas se quedan enanas y mueren prematuramente, en algunas variedades pueden inducir necrosis interna y externa del tubérculo. Existe una correlación entre los síntomas del follaje y del tubérculo, sin embargo, el mosaico suave comúnmente inducido por la variante del virus Y de la papa-necrosis de las nervaduras del tabaco (PVY^N) no va

acompañado de síntomas en los tubérculos. Las variedades que a la infección con el virus Y común (PVY⁰) reaccionan con necrosis en el follaje, muestran a veces anillos de color castaño claro en la piel de los tubérculos (Ames, 1980).

En los últimos años, el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) se ha visto afectado por la enfermedad punta morada, la cual es ocasionada por un fitoplasma, que disminuye la calidad de los tubérculos al inducir la acumulación de metabolitos, ocasionándoles un manchado interno que los hace inadecuados para la industria (García, 1996). Sin embargo Jensen (2004) en muestras analizadas con síntomas de punta morada obtuvo resultados positivos para el virus del enrollamiento observando que aquellas con síntomas leves el porcentaje de virus era mayor.

Virus del enrollamiento de la hoja de papa (PLRV)

Importancia y distribución del virus

Las enfermedades virales son las responsables primarias de la degeneración gradual de las variedades, la cual se traduce principalmente en la pérdida de rendimiento. En algunos casos los virus causan pérdidas cualitativas debido a la reducción del valor de mercadeo y conservación de tubérculos (Salazar, 1997).

La enfermedad del enrollado de la papa es conocida desde el siglo XVII; es una de las más importantes del cultivo y se ha extendido por todas las zonas donde se cultiva en el mundo, especialmente en muchos países de Europa. Para 1974 el PLRV

era el virus más extendido en la zona productora de papa en Francia. Sin embargo en la actualidad no representa más del 10 por ciento de las infecciones. Pero para muchas zonas continúa siendo el más importante como en las variedades cultivadas en Escocia y en los Países Bajos, atribuyéndosele pérdidas en el rendimiento del 50 por ciento (Rousselle, 1999).

Smith (1992), menciona que el PLRV llegó a causar reducciones en la producción de tubérculos del 50-80 y las pérdidas medias de un 10 por ciento, lo equivalente a unos 20 millones de toneladas de papa cada año en todo el mundo. La variedad Russet Burbank es muy susceptible al PLRV que se expresa en el tubérculo como una necrosis y constituye casi 2/3 partes de la producción de papa comercial en Washington, que se traduce en aproximadamente \$300 millones de dólares por año en el valor de producción por el riesgo de la necrosis en los tubérculos (Marsh *et. al*, 1998).

Según Salazar (1997), en climas templados las variedades susceptibles al PLRV han registrado pérdidas de 90 por ciento. Por otra parte Acosta *et al.* (s.f.) mencionan que la coinfección de plantas de papa con los virus PVX y PLRV reduce la producción del tubérculo a niveles que oscilan entre 65 y 100. En el rendimiento de una planta con infección secundaria de PLRV puede bajar hasta 50 por ciento comparándolo con una planta saludable (Beukema, 2000).

En México este virus se encuentra en Guanajuato, Puebla, Tlaxcala, Toluca y en la región de Coahuila y Nuevo León. Su acción puede causar reducción en el

rendimiento para la variedad Alpha y para la variedad López en un 56 y 45 por ciento respectivamente (Pérez, 2004).

Agente causal

Los virus son partículas submicroscópicas y parásitos obligados, por lo que sólo pueden multiplicarse valiéndose de los procesos metabólicos de las células de la planta hospedera. El enrollamiento foliar de la papa es una enfermedad cuyo agente causal es *potato leaf roll virus* (Beukema, 2000), virus que pertenece al género Polerovirus. PLRV, como otros virus, es sumamente pequeño y no puede verse con la ayuda de un microscopio compuesto (Johnson y Pappu, s.f.). Pertenece a la familia luteoviridae nombre derivado del latín *luteos* que significa amarillo, ya que los virus pertenecientes a esta familia producen un amarillamiento en el hospedero (Walkey, 1991). PLRV tiene una morfología isométrica y un genoma de ARN mensajero de una sola cadena que tiene una proteína pequeña unida al genoma (Hadidi *et al.* 1993). Tiene partículas de unos 25 nm de diámetro y están limitadas al tejido floemático y los tubérculos son infectados a través del sistema vascular. Las cepas difieren por la severidad de sus reacciones sobre la papa, y sobre *Physalis floridana* o por su aptitud para ser transmitida por áfidos (Rousselle, 1999).

Transmisión de PLRV

La entrada viral en la vía de transporte a larga distancia del floema es crítica para el establecimiento de infección sistémica, y la incapacidad de un virus para

entrar en el floema eficazmente puede resultar en apacible o los síntomas pueden atenuarse, o bien darse una resistencia del hospedero a la infección sistémica. Los virus limitados al floema se transmiten por los insectos vectores introduciendo directamente el virion, vía la saliva del insecto. Una vez dentro del sistema de traslocación, el virus debe terminar de introducirse en las células asociadas al floema para la replicación (Lucas y Gilbertson, 1994).

La cantidad de PLRV adquirida por *Myzus persicae* de las fuentes de inóculo, está en función de la concentración del virus en el sitio del alimento y el período de adquisición. Los luteovirus no se distribuyen uniformemente en las plantas infectadas y la disponibilidad localizada de PLRV en los tejidos de la planta afecta la transmisión eficaz por el áfido. Los pulgones pueden causar alteraciones con los nutrientes en las áreas de las plantas en donde se alimentó (Mowry, 1995).

M. persicae es el vector más eficaz e importante que transmite el virus de manera persistente. Este áfido se alimenta de un número grande de plantas y es extensamente distribuido. Un áfido libre de virus puede alimentarse en el tejido del floema de una planta infectada por pocos minutos, pero toma hasta 12 horas para que pueda transmitir de manera más eficaz al PLRV, pero una vez que adquiere el virus tiene la habilidad de infectar las plantas sanas para el resto de su vida. Los áfidos alados virulíferos extienden el virus entre los campos y a grandes distancias. Los áfidos no alados extienden el virus de la planta infectada, principalmente dentro de las filas. El virus no se puede transmitir a la descendencia, por lo que cada áfido tiene que adquirir el virus alimentándose en una planta infectada (Johnson y Pappu, s.f.).

Después de la ingestión de savia de la planta infectada con PLRV, las partículas del virus atraviesan la pared del intestino del áfido y hasta llegar a la hemolinfa. Cuando entra en las glándulas salivales, el áfido puede transmitirlo a otra planta mientras se alimenta (Rowe, 1993).

El vuelo de los áfidos alados se produce en el momento de la emergencia de las plantas, siendo el responsable de las infecciones primarias, generalmente sin síntomas, ocasionando que las depuraciones visuales sean difíciles o incluso imposibles y permite la posterior diseminación del virus en las parcelas por los individuos alados o por los ápteros (Rousselle, 1999).

Ames (1980), señala que la temperatura moderada y el clima seco favorecen la diseminación. Las plantas se hacen resistentes con la edad y ocasionalmente algunos tubérculos provenientes de plantas infectadas tardíamente escapan a la infección.

Sintomatología

El virus del enrollamiento de la hoja de papa, puede expresarse como una necrosis en tubérculos que es una red de tejido desteñido que desarrolla primero en la base del estolón (Figura 2.1). Las papas infectadas que no están necrosadas en la cosecha pueden manifestar el manchado en el almacenamiento. Los tubérculos necróticos no son convenientes para el mercado fresco o para procesarlos, teniendo así una reducción del valor comercial (Marsh, *et al.* 1998).



Figura 2.1 Necrosis causada por PLRV en tubérculos.

La severidad de síntomas depende de la variante del virus, la susceptibilidad del cultivar, el tiempo de infección, y del medio ambiente. Infecciones de la actual-estación que se desarrollan casi al final del ciclo no pueden causar ningún síntoma visible, pero algunas veces pueden infectarse los tubérculos. En las infecciones de la actual-estación tempranas, las hojas jóvenes pueden volverse cloróticas (Rowe, 1993).

Bokx (1980), menciona que los síntomas de la infección primaria aparecen principalmente en las hojas jóvenes en el extremo de las plantas. Estas hojas se mantienen en general erguidas y son amarillo-pálidas y en algunas variedades matizadas de púrpura rojo (Figura 2.2). Con frecuencia, las hojas de ciertas variedades se enrollan, especialmente a nivel de la base. Las infecciones de PLRV siempre se acompañan por necrosis del floema en los tallos y pecíolos.

Los síntomas característicos de la infección secundaria son el enrollamiento de las hojas de la base en forma de cuchara, el porte erguido y el enanismo de la planta (Figura 2.3); la acumulación de almidón hace que las hojas se tornen duras y crujientes lo que puede permitir la diferenciación de la infección viral de los enrollados blandos debido a *Rhizoctonia* o a *Erwinia* (Rousselle, 1999). Los síntomas secundarios se hacen evidentes al momento en que la planta brota a partir de tubérculos infectados (Ames, 1980).



Figura 2.2 Enrollamiento de folíolos y bordes con coloración púrpura-rojiza



Figura 2.3 Enrollado y achaparramiento de la planta.

A nivel histológico la infección por PLRV se traduce en muchas variedades por una acumulación de callosa en los tubos cribosos y en necrosis del tejido floémico de los pecíolos, tallos y tubérculos. Y desde el punto de vista bioquímico hay una disminución de la actividad fotosintética y del contenido en clorofila, con modificación de los metabolismos glucídico (acumulación de almidón foliar) y proteico (Rousselle, 1999).

Métodos de diagnóstico.

La identificación de PLRV en semilla de papa certificada era difícil y poco confiable el reconocimiento de síntomas principalmente en los campos, pruebas poco factibles de transmisión, y los ensayos del laboratorio eran menos precisos (Rowe, 1993).

El diagnóstico completo de un virus es relevante porque determina, en gran medida, el éxito de las alternativas para su control. Una manera de identificar un virus a través de los síntomas que produce es mediante el uso de plantas indicadoras, las cuales son especies o variedades de plantas sensibles a virus específicos, y una vez que han sido inoculadas con ellos muestran síntomas característicos. El desarrollo de los síntomas que muestra una planta indicadora identifica al virus con el que dicha planta fue inoculada (Pérez *et al.* 2004).

A diferencia de PVX y PVY, en las pruebas de rutina para detectar PLRV no se puede utilizar plantas indicadoras. Ya que estas deben ser inoculadas por pulgones y este procedimiento requiere de tiempo. Las plantas indicadoras son, sin embargo, prácticas para realizar pequeñas pruebas y la mejor de todas es *Physalis floridana*. Ya que es muy susceptible al virus y a los 7-14 días después de la inoculación muestra una detención del crecimiento, clorosis y cierto enrollado (Bokx, 1980)

Una de las formas de diagnosticar virus es a través de la observación de síntomas microscópicos mediante microscopía de luz, porque los virus inducen a

nivel celular en citoplasma, núcleo o nucleolo, estructuras denominadas inclusiones virales, cuyas características típicas permiten ubicar un virus en un determinado grupo (Pérez, 2004). Y el PLRV induce inclusiones citoplasmáticas cristalinas y fibrilares en células del floema (Cárdenas, 1999).

Otra forma de diagnosticar el PLRV es mediante el uso de la prueba de inmunoabsorción con enzimas ligadas o ELISA, que es un método confiable y rápido para la detección de agente fitopatógenos. Las pruebas serológicas, como ELISA, están basadas en la capacidad que tienen los agentes fitopatógenos (antígenos) para desencadenar la producción de inmunoglobulinas (anticuerpos) cuando son inyectados en organismos de sangre caliente. Estos anticuerpos reaccionan específicamente con la proteína del patógeno inyectado (Pérez, 2004). ELISA se ha usado extensivamente en el descubrimiento de virus de plantas. Aunque estos ensayos son relativamente más sensibles y aplicables a grandes cantidades de muestras con virus, intenta aumentar su sensibilidad usando cantidades más pequeñas de tejidos de la planta u órganos (Singh y Somerville, 1992).

Se desarrolló la técnica de reversa transcriptasa RT-PCR para el descubrimiento de PLRV en los extractos del ácido nucleicos de papa infectada y tubérculos, así como en los áfidos virulíferos. La técnica de RT-PCR para PLRV es más sensible que los métodos existentes y puede detectar el PLRV en la planta o insectos vectores, sin requerir muestras grandes (Hadidi, *et al.* 1993).

Prevención.

La industria de la papa en el Noroeste del Pacífico tuvo que combatir los efectos del virus del enrollamiento de la hoja de papa cerca del año de 1900. Las estrategias tradicionales eran dirigidas directamente en campo hacia el vector y erradicar las fuentes potenciales de virus. Además se tuvo que implementar el uso de semilla certificada. El pulgón se controló con más éxito con el uso de insecticidas (Marsh, 1998).

Según Presting, *et al.* (1995), las medidas de control actuales se limitan a usar semilla limpia, el control del vector de áfido de melocotón verde, es plantar cuando las poblaciones del áfido son naturalmente bajas. La resistencia transgénica puede ofrecer un medio alternativo atractivo para reducir el daño de PLRV.

En las áreas productoras de papa para semilla, el control del áfido es necesario de acuerdo a las normas de certificación (Difonzo, 1994). Se deben hacer aplicaciones de insecticidas a partir de la emergencia para el control de los áfidos. Esta medida reduce la diseminación de la enfermedad dentro de la parcela, pero no es muy efectiva para reducir la diseminación entre parcelas, por lo tanto la acción comunitaria para el control simultáneo en todas las parcelas de la comunidad será muy importante. Además no se debe trasladar semilla proveniente de campos afectados a otras zonas del país con el fin de no diseminar al PLRV (PROINPA, 1997).

Valenzuela *et al*, (2002), señala que se han producido plantas en diversas especies libres de virus empleando el cultivo de meristemos. Para aumentar las posibilidades de obtener plantas libres de virus, especialmente cuando hay más de un virus presente, se someten a tratamiento con calor, y posteriormente al cultivo de meristemos.

Interacción de PLRV en la Punta Morada.

Otras dos enfermedades de papa tienen como resultado síntomas de enrollado de hojas y pueden confundirse con el virus del enrollamiento de la hoja de papa. Una enfermedad es causada por un fitoplasma y es conocida como punta morada de la papa o amarillo del aster. En ciertas variedades, la punta morada muestra marchitamiento y coloración morada en la parte inferior de las hojas, y posteriormente la muerte prematura de la planta. Los nudos hinchados y entrenudos en zig-zag, así como pequeños tubérculos aéreos producidos en las axilas del tallo son otros síntomas de diagnóstico de la punta morada. La segunda enfermedad son los canchales causados por el hongo *Rhizoctonia*, da como resultado la formación de tubérculos aéreos pero es siempre asociado con lesiones abajo del tallo. Pueden confundirse los síntomas de la necrosis en los tubérculos con necrosis vasculares causada por *Verticillium* o estrés causados por el medioambiente, como necrosis de calor (Johnson y Pappu, s.f.).

En 1963 la identificación de las enfermedades que causaban síntomas de amarillamiento en papa en la India se inició con estudios para averiguar las causas del

brote de hilo en tubérculos. El brote de hilo de la papa prevalece bajo condiciones de almacenamiento, bajo diversos factores bióticos y abióticos como hongos, virus, fitoplasmas, y condiciones fisiológicas o del medioambiente. Con la asociación del PLRVy las enfermedades causadas por fitoplasmas, como la escoba de bruja, punta morada de la papa, flavescencia marginal y filodia de la papa que también se han presentado en el brote de hilo (Maramorosch y Raychaudhuri, 1988).

Jensen (2004), menciona que realizaron pruebas de PCR para fitoplasma y virus del enrollamiento de la hoja (PLRV) en 35 muestra sintomática de las áreas de Paterson y de Moxee en Estados Unidos de América. Y obtuvieron los siguientes resultados: plantas con síntomas severos de punta morada dieron positivos para el fitoplasma la mayor parte del tiempo. Una tercera parte de las muestras era positivo para PLRV, pero infecciones mixtas de fitoplasma y de PLRV ocurrió sólo en 1 de 14 muestras con síntomas de punta morada severa. Las plantas con síntomas leves de punta morada raramente eran positivos para el fitoplasma, pero la mayoría dieron positivos para PLRV. Las plantas que presentaban síntomas de enrollamiento, con o sin síntomas de punta morada, eran positivos para estos patógenos aproximadamente 20 por ciento de las veces. Estos resultados confirman que hay un rango de síntomas producidos por el fitoplasma y PLRV que se traslapa y para confirmarlo se necesitan pruebas para el diagnóstico exacto. Muchas de las muestras sintomáticas eran negativos para el fitoplasmas y PLRV. Esto sugiere que (1) los patógenos no se distribuyen uniformemente en las plantas, (2) están presentes en concentraciones muy bajas, o (3) puede haber otro patógeno o desorden que causa síntomas similares.

En las zonas productoras de papa Coahuila y Nuevo León, los diagnósticos fitopatológicos han identificado asociado al síndrome de la punta morada, la presencia de fitoplasma, los hongos *Verticillium* y *Fusarium* y al virus del enrollamiento de la hoja (PLRV) (Parga, 2004).

El PROINPA (1997) reporta que en algunas zonas productoras de papa se presenta una enfermedad denominada “planta morada”. Presentándose una incidencia por parcela de hasta un 100 reduciendo el rendimiento entre 30 y 66 por ciento. Ellos asocian esta enfermedad con el PLRV y PVY. Aunque han determinado que una variante de PLRV introducida a Bolivia alrededor de 1985, es el que ocasiona esta enfermedad. Las plantas afectadas severamente por la enfermedad muchas veces no florecen o presentan períodos cortos de floración. Según los síntomas que ellos le atribuyen a la planta morada son muy similares a los reportados para la punta morada.

Los tubérculos infectados producen brotes delgados y débiles afectando la emergencia, que resulta retardada, desuniforme y con plantas débiles, al igual que el caso del brote de hilo. Cuando la infección se produce en plantas sanas (infección primaria) la antocianescencia empieza en las hojas jóvenes de la parte superior de la planta. Y en la infección secundaria que es cuando los tubérculos están infectados la antocianescencia se presenta desde que la planta emerge. Y para ambos casos la antocianescencia se observa en el borde superior y punta de los folíolos a manera de pequeñas áreas con pigmentación morada; síntomas que se reportan para la punta morada de la papa. Además la cantidad de raíces y estolones disminuye, además los estolones son delgados. Lo que origina que haya un reducido número de tubérculos

de menor tamaño (PROINPA, 1997). Los síntomas reportados para PLRV y punta morada son muy parecidos, sin embargo se maneja como principal agente causal de la punta morada a fitoplasmas transmitidos por vectores.

Punta morada

Importancia y Distribución.

Cranshaw (1993) menciona que desde 1920 se detectaron los problemas ocasionados por el psilido de la papa en EUA y que en la actualidad se encuentra distribuido en los estados de Minnesota, Dakota del Norte, Dakota del Sur, Nebraska, Kansas, Oklahoma, Texas y todos los estados del oeste americano.

Cadena-Hinojosa, en (1993) menciona que la punta morada de la papa, fue reconocida inicialmente en Canadá en 1933, y fue hasta 1953 que se registraron incidencias de 20 a 75 por ciento. Y durante el año de 1954 las pérdidas en la producción comercial fueron cuantiosas tanto en Canadá como en los Estados Unidos, ya que los tubérculos usados como semilla produjeron el síntoma de “brote de hilo”, lo que provocó que las plantas que se desarrollaron no produjeran adecuadamente.

Los síntomas conocidos como punta morada de la papa fueron detectados en México desde 1948, el problema tuvo baja importancia en su inicio, sin embargo, en los últimos 10 años se incrementó principalmente en la zona centro del país, llegando

a afectar hasta el 70 por ciento de la superficie sembrada en México, convirtiéndose en un problema fitosanitario prioritario a nivel nacional. Los daños que ocasiona van del 20 al 100 por ciento del rendimiento comercial de tubérculos (Cadena, 1996)

El incremento de la enfermedad es considerable ya que en México en 1993 se obtuvieron cosechas con porcentajes de tubérculos dañados del 30 y en 1995 hasta el 90 (García, 1996). Los síntomas producidos por el psilido de la papa se han detectado en casi todos los estados productores de papa, con excepción de Sonora, Sinaloa y Jalisco (Almeyda *et al.* 2004).

Cázares *et al.* (2003) mencionan que las plantas de papa afectadas presentan alteraciones fisiológicas que disminuyen la calidad y rendimiento de los tubérculos, además, dichos tubérculos no se pueden utilizar como semilla. Y que en la actualidad esta patología afecta negativamente el rendimiento y la calidad del producto.

Martínez, (1999) cita que México y Guatemala, la ubican como el segundo problema en importancia del cultivo de la papa después del tizón tardío; y que desde 1967 se han hecho observaciones de que los clones de papas introducidos de Europa y Norteamérica mostraban mayor susceptibilidad que las variedades criollas locales.

Según Salazar (1996), investigadores de los Estados Unidos de Norteamérica reportan a la punta morada como daño de una toxina transmitida por *Bactericera cockerelli*; mientras que otros autores aseguran que varios de los síntomas de punta

morada son causados directamente por la introducción del estilete del psílido al floema de la planta.

Agente Causal

Por mucho tiempo fue diagnosticada en todo el mundo como virosis; en algunos países se considera como problema nutricional, enmascarando los síntomas con la aplicación de fertilizantes foliares; también, como daño de *Fusarium* y de nemátodos (García y Flores, 2002).

Según cita Martínez (1999), es posible transmitirla por medio de injertos y en algunas ocasiones a través del insecto *Macrostes divisus* (Homoptera: *Cicadellidae*). La transmisión por tubérculos aparentemente era rara y su distribución en campo errática, sin embargo, se observa gran similitud en los períodos de incubación y síntomas inducidos por el Virus del Amarillamiento del Aster.

En la actualidad, está comprobado que la punta morada es causada por un fitoplasma, transmitido únicamente por chicharritas (*Macrostes fascifrons*) y psílicos (*Bactericera cockerelli*), que se encuentra presente en las células cribosas del floema y aparentemente en raras ocasiones, en células del parénquima floemático de las plantas infectadas según reporta Salazar (1996).

Agrios (1988), define a los fitoplasmas como organismos pleomórficos, que carecen de pared celular verdadera, así como de la capacidad para sintetizar las

sustancias que se requieren para formarlas y están rodeados de una membrana unitaria constituida por tres capas. Estos organismos son pequeñas células, en ocasiones ultramicroscópicas, que contienen citoplasma, ribosomas dispersos al azar y filamentos de ADN. Llegan a alcanzar un diámetro de 1000 nm y su forma es de cocos a ligeramente ovoides hasta filamentosos.

Las más grandes o formas prevalentes son casi esféricas y contienen una red fibrilar central de hebras aparentemente de ADN y un área periférica de gránulos parecidos a ribosomas. La presencia de formas alargadas pequeñas, sugiere la idea de que se propagan por fisión, brotamiento o fragmentación (Ames, 1980).

Leyva *et al.* (2002) en México encontraron que existen infecciones múltiples de fitoplasmas en una misma planta de papa. Utilizando técnicas moleculares encontraron que el síndrome de la punta morada está asociado a un fitoplasma del grupo 16S I, y el brote de hilo está asociado al grupo 16S II.

Transmisión del fitoplasma.

El patógeno puede ser transmitido experimentalmente por injerto, sin embargo para fines epidemiológicos, la transmisión por tubérculo (semilla) y por insecto son las de mayor importancia. Los tubérculos originados de plantas con punta morada, resultan con rendimientos significativamente menores, debido a una emergencia retardada y al menor vigor de las plantas. Cabe mencionar que las plantas severamente afectadas por punta morada no producen o producen muy pocos

tubérculos que puedan ser usados como semilla. Además los tubérculos infectados no brotan o lo hacen muy débilmente no formando una planta adulta. Aparentemente el ciclo no estaría cerrado de esta forma por lo que entran en juego aspectos epidemiológicos muy importantes como lo son reservorios naturales y la transmisión por insectos. Sin embargo en campo se han observado que plántulas recién emergidas poseen síntomas típicos de punta morada, que sin duda provienen de tubérculos infectados según cita Martínez (1999).

Del complejo de plagas que atacan este cultivo, los psílidos y las chicharritas, son los de mayor importancia tanto en estas regiones como a nivel nacional, debido a que la especie de la familia Psilidae *Bactericera cockerelli*, anteriormente llamada *Paratrioza cockerelli*, es el principal vector del fitoplasma, agente causal del síndrome de la punta morada de la papa (Sánchez y Almeyda, 2004). En otras regiones del país se reportan dos especies de la familia Cicadellidae, *Macrosteles* spp. y *Aceratagallia* spp, las cuales están relacionadas con el síndrome (Maramorosch, 1998).

Flores *et al.* (2004) señalan que hay dos fuentes de diseminación y transmisión de la punta morada, la primera es por medio de tubérculos infectados que se usan como semilla . Y la segunda manera es por medio de insectos vectores cicadelidos y psílidos que poseen el fitoplasma, adquirido de plantas infectadas de papa, o bien de papas mostrencas ó malas hierbas que rodean el cultivo ó bien plantas silvestres que son hospederos del fitoplasma. Además mencionan que condiciones de estrés en la planta aceleran e incrementan la aparición de los síntomas.

Los insectos vectores son el medio más importantes de dispersión de los virus y fitoplasmas en la naturaleza. Algunos de estos patógenos son suficientemente estables a dispersarse solos: la inmensa mayoría requiere protección durante la dispersión. El material de la planta puede proporcionar protección, como en el caso de propagación vegetativa o transmisión de la semilla. A menudo, el patógeno se alberga dentro de un vector y protegido del ambiente mientras es transportado a través del tiempo y por el espacio (D'Arcy y Nault, 1982).

Los fitoplasmas son organismos muy sensibles a la luz ultravioleta y son inmóviles, por lo que deben de ser transmitidos dentro de las estructuras del vector; además los patógenos como los fitoplasmas se encuentran sólo en el tejido vascular de las plantas infectadas, para lo que se necesitan métodos especializados de transmisión, como los injertos y los insectos que se alimentan del floema (Osuna, 1999).

El vector adquiere al patógeno después de alimentarse de plantas infectadas durante varias horas o días. El vector no transmite el fitoplasma inmediatamente después de alimentarse, sino que transcurre un período de incubación de 10 a 45 días, dependiendo de la temperatura, el período de incubación más corto se da a los 30 °C. Los fitoplasmas no pasan del vector adulto a los huevecillos, aunque el fitoplasma en relación con su vector se transmite de manera persistente, (Salazar, 1996; Agrios, 1988).

Características de los vectores.

Bactericera cockerelli. Los psílidos o piojos saltadores en plantas (Homoptera: Psyllidae) son un grupo de pequeños insectos que se alimentan de la savia de estas. La familia Psyllidae se caracteriza por presentar alas delanteras membranosas las cuales cuando el insecto está en reposo cubren su cuerpo a manera de techo de dos aguas. Los tarsos son de dos segmentos. Las antenas presentan 10 segmentos; el aparato bucal es corto y de tres segmentos. Su tamaño varía de 2 a 5 mm de longitud (Borrór *et al.* 1981). Las ninfas de los psílidos presentan un aspecto aplanado dorso-ventral y son menos móviles que los adultos y generalmente se encuentran congregadas. Las ninfas de algunas especies de psílidos están cubiertas con secreciones de cera blanca y otras formadoras de agallas (White y Hodkinson, 1985).

B. cockerelli, también llamado psílido de la papa o del tomate podría ser originario del Oeste de Estados Unidos de Norte América. Este psílido provoca síntomas de folíolos enrollados hacia adentro, hojas apicales con folíolos ondulados con bordes morados y el resto amarillento, plantas achaparradas, entrenudos cortos, axilas engrosadas, numerosos tubérculos de tamaño chico y brotación prematura. En estudios sobre la fisiología anormal de la planta por el efecto de *B. cockerelli* en papa, se reportó que el estilete del insecto penetra a través de la periferia de las células del mesófilo hasta llegar al floema, que es en donde se alimentan las ninfas citado por Garzón (2004).

El psílido puede ocasionar dos tipos de daños: el toxinífero o directo y el indirecto como transmisor de un fitoplasma. La toxina en la saliva de *B. cockerelli* es una sustancia que daña a células que producen clorofila en las hojas de las plantas y que dan el color verde a éstas, lo que hace que se vean amarillentas y raquílicas. Por otro lado, el fitoplasma es un organismo infeccioso, submicroscópico, más grande que un virus y que tiene la forma de un huevo (Marín, 2004).

B. cockerelli, tiene tres etapas de vida: huevos, ninfas y adultos. Los huevos son muy pequeños, tienen forma ovalada y van de color amarillo a naranja, generalmente se encuentran en el envés y en los márgenes de la hojas; las ninfas salen de los huevecillos después de cuatro a quince días, su forma es aplanada y ovalada de color amarillento-verdoso, con los ojos rojos y tres pares de patas cortas. Las ninfas pasan por cinco instares en dos o tres semanas antes de ser adulto; ya en su etapa de adulto tienen alas delanteras membranosas (Garzón, 2002).

Macrosteles fascifrons. Otro vector del fitoplasma son las chicharritas, (principalmente *M. fascifrons*) que inverna en malas hierbas, céspedes y cereal. El fitoplasma se transmite y propaga en la chicharrita. La papa no es el hospedero principal y normalmente escapa a la infección por lo que *M. fascifrons* no completa su ciclo de vida en la papa (Beukema *et al.* 2000).

Las chicharritas, son homópteros alados pasa por tres estados de vida: huevo, ninfa (5 instares) y adulto en forma de cuña, con el cuerpo más amplio en la cabeza y en la región torácica, voladores activos fuertes y mucho más móviles que los áfidos,

que a diferencia con estos últimos son importantes en el cultivo de la papa debido a que causan un daño directo al alimentarse de la planta (Martínez, 1999).

Sintomatología.

La punta morada de la papa produce plantas con enrollamientos de las hojas, tubérculos aéreos, enanismo y acumulación de antocianinas en las hoja jóvenes en aquellas variedades que las producen (Rodríguez *et al.* 1995). La enfermedad causa una conversión anormal de almidones a "reducir azúcares" que caramelizan durante el freído. El resultado es un oscurecimiento severo y decoloración del tubérculo que afectan su apariencia y sabor de la papa frita (Etkin, s.f.).

Los síntomas principales de la punta morada de la papa son: reducción en crecimiento, enrollamiento de los bordes de las hoja apicales, se tornan amarillo, y las hojas toman una coloración rojiza o morada (Figura 2.4). Los tallos pueden hincharse, y se pueden desarrollar tubérculos aéreos (Figura 2.5). Los tubérculos a la cosecha generalmente parecen normales, y dependiendo del tiempo de infección, sólo algunos de los tubérculos en las plantas individuales pueden infectarse. En algunos casos, el patógeno sobrevive en los tubérculos e infecta las plantas que desarrollan de ellos. (Rowe, 1993).



Figura 2.4 Enrollamiento y clorosis de hojas



Figura 2.5 Tubérculos aéreos en la planta.

Según Ames (1980), ocasionalmente hay proliferación de yemas axilares, y que además sólo un tallo se encuentra afectado, quedando las plantas afectadas enanas y llegan a morir. Bajo condiciones de campo la parte inferior del tallo presenta necrosis cortical, deshilachamiento del tejido y decoloración vascular (Figura 2.6). A la cosecha, una planta afectada presenta tubérculos maduros y algunos otros no han alcanzado la madurez todavía.

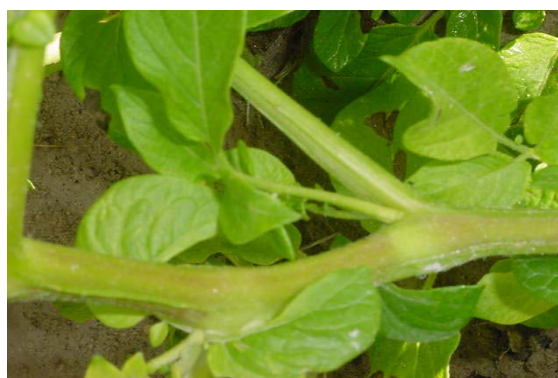


Figura 2.6 necrosis del tallo y producción de yemas axilares

Flores *et al.* (2004) mencionan que plantas que se originan de tubérculos infectados, pueden manifestar la enfermedad desde los 20 días después de la

emergencia, dependiendo de las condiciones de nutrición y humedad. Las plantas dañadas, producen tubérculos pequeños y si se llegaran a observar tubérculos de primera, al hacer un corte transversal se observará manchado (Figura 2.7).



Figura 2.7 Manchado de los tubérculos provenientes de plantas con síntomas de punta morada

Los tubérculos infectados con síntomas o asintomáticos, cuando se usan como semilla, manifiestan tres características: a) producen brote normal, b) no brotan, c) brotan con brote de hilo (Flores *et al.* 2004).

Los fitoplasmas producen alteraciones histológicas como son; hipertrofia, hiperplasia y proliferación o necrosis de células, especialmente del floema secundario, hay acumulación anormal de callosa en las paredes del floema secundario. Las alteraciones celulares a nivel estructural en el hospedante incluyen: incremento en el contenido ribosomas, degeneración de mitocondrias y cloroplastos así como vacuolización del citoplasma, (Martínez1999).

Métodos de Diagnóstico.

Green *et al.* (1999), citan que los fitoplasmas han sido diagnosticados por bioensayos en el hospedero, microscopía electrónica, serología, sin embargo, estos métodos han limitado la sensibilidad y no son convenientes para usarse en un gran número de muestras. La técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una herramienta eficaz para el descubrimiento de fitoplasmas en las planta.

El uso de técnicas moleculares para descubrir, clasificar e identificar fitoplasmas ha permitido: 1) determinar asociaciones consistentes de algún fitoplasma con una enfermedad específica 2) reconocer algunas enfermedades como los complejos de varios desórdenes similares causados diferentes fitoplasmas, y 3) determinar infecciones mixtas de fitoplasmas en una planta (Davis y Sinclair, 1998).

La identificación de los fitoplasmas y su clasificación en grupos se basa en características biológicas como especificidad de transmisión por insectos vectores, rango de hospedantes y tipos de síntomas (Lee *et al.* 1995).

Martínez (1999) cita que la detección específica y sensible de algunos fitoplasmas tanto en plantas como en insectos hospedantes también se ha logrado por medio de hibridación molecular utilizando como sondas fragmentos del DNA de fitoplasmas clonados al azar. Además señala que con la introducción de la técnica de PCR se incrementó la sensibilidad y especificidad en la detección de fitoplasmas ya

que con ésta técnica se puede detectar infecciones latentes o tempranas en plantas o tubérculos asintomáticos provenientes de plantas enfermas.

Control.

El conocimiento básico de las relaciones complejas entre el patógeno, vector, y la planta hospedera es de gran importancia para un control de la enfermedad exitoso. Muchos métodos, incluyendo el uso de semilla y plantas sanas, eliminar plantas infectadas, y la incorporación de plantas resistentes al patógeno, han sido usados para el control de los insectos vectores de fitoplasmas. El control de virus y fitoplasmas transmitidos persistentemente a la planta normalmente involucra los insecticidas (D'Arcy y Nault, 1982). Por otra parte Parga, (2004) señala que el mejoramiento de poblaciones de papa para punta morada, es un ejemplo de resistencia múltiple a las plagas y enfermedades. Debido a que el síndrome de punta morada es causado por diferentes factores bióticos o abióticos, como son los fitoplasmas, virus, hongos y bacterias; así como deficiencias nutricionales, altas temperaturas y sequías. El mismo autor menciona que como no es posible aplicar medidas de control directas sobre los fitoplasmas, el manejo integrado del cultivo contribuye a eliminar, reducir o prevenir la diseminación de estas enfermedades.

Virus del Enrollamiento de la Hoja de Papa y su detección en el Síndrome de la Punta Morada

Lidia Monserrat Flores-Torres, Abiel Sánchez-Arizpe, Alberto Flores-Olivas, Francisco Daniel Hernández-Castillo, Antonio Cárdenas-Elizondo, Abenamar Jordan Zúñiga-Alvarez Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Depto. De Parasitología Agrícola, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. CP 25315, **Victor Manuel Parga-Torres**, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Apdo. postal 150. Y **Emilio Padrón-Corral**, Centro de Investigación en Matemáticas Aplicadas, Universidad Autónoma de Coahuila, Saltillo, Coahuila, México CP 25100

Resumen. Se utilizó material vegetativo de papa de las variedades Gigant y Adora para evaluar la incidencia y severidad de punta morada, y la detección del PLRV en laboratorio; se realizaron cinco muestreos tomando en cuenta la fenología de la planta, la severidad se evaluó en base a una escala que se diseñó para este fin. La incidencia de punta morada se tomó en campo analizando 90 plantas por lote. Para la detección del virus del enrollamiento de la hoja se usó la técnica de DAS-ELISA. La severidad que se presentó en la mayoría de los lotes fue alta alcanzando un nivel cinco. La incidencia de la punta morada se fue incrementando conforme pasaba el ciclo del cultivo, teniendo para madurez y cosecha una incidencia de hasta un 100 por ciento en los diferentes lotes evaluados. De las 150 muestras analizadas con síntomas de punta morada, 30.6 por ciento fueron positivas al virus del enrollamiento de la hoja, de acuerdo a los resultados de la técnica DAS-ELISA.

Palabras claves adicionales: papa, PLRV, DAS-ELISA, incidencia, severidad

Abstract. Vegetative material of potato of the varieties Gigant and Adora were used to evaluate the incidence and severity of purple top, and detection of the PLRV in laboratory; were carried five samplings taking into account the life of the plant, the severity was evaluated based on a scale that was designed for this purpose. The incidence of purple top took in field analyzing 90 plants for lot. For the detection of the potato leaf roll virus the technique was used DAS-ELISA. The severity presented in majority of the lots was high reaching a level five. The incidence of the purple top increased in the course of the cycle, having for maturity and harvests an incidence of until 100% in the evaluated lots. Of the 150 analyzed samples that were processed with symptoms of purple top 30.6% went positive to the potato leaf roll virus, according to the technical DAS-ELISA results.

Additional key words: potato, (PLRV), DAS-ELISA, incidence, severity.

INTRODUCCIÓN

El virus del enrollamiento de la hoja se encuentra distribuido a nivel mundial constituyendo una limitación en el rendimiento del cultivo (Mihovilovich, 1996), causa reducciones del 50-80 % en la producción de tubérculos y las pérdidas promedio se han estimado en un 10% lo que equivale a unos 20 millones de toneladas de papa cada año en todo el mundo (Smith, 1992). En las zonas paperas de Bolivia, en 1985 se presentó una variante del PLRV que ocasionó una enfermedad denominada planta morada con incidencias del 100 % y una reducción del

rendimiento entre 30 y 66 %. PLRV es un luteovirus (Francki, *et al.*, 1991), transmitido de manera circulativa y persistente por áfidos, siendo el más eficiente *Myzus persicae* (Sulzer) (Van den Heuvel *et al.*, 1993). El virus presenta partículas isométricas de 25 nm de diámetro (Harrison, 1984); está confinado al floema de las plantas infectadas y no es transmitido por inoculación de savia o mecánicamente (Robertson, *et al.*, 1991). Las infecciones reducen el rendimiento y en algunos cultivares el PLRV causa necrosis en los tubérculos (Difonzo, 1994), desarrolla una red de color castaño en el tejido del tubérculo (Marsh, 1998). Muchos cultivares de papa, incluso aquellos que presentan alta susceptibilidad al virus exhiben en la madurez de la planta una resistencia a PLRV (Flanders *et al.*, 1990). Este virus presenta algunos síntomas muy similares a los reportados para la punta morada como brotes de tubérculos infectados delgados y débiles, la antocianescencia (coloración morada) es el síntoma típico de esta enfermedad, folíolos pequeños, raquis y pecíolos erectos, entrenudos cortos, enrollamiento de folíolos, clorosis generalizada en hojas que aún no se tornan moradas (PROINPA, 1997), además en algunas variedades el floema se necrosa y se observa una acumulación de carbohidratos en las hojas, y necrosis en los tubérculos (Agrios, 1988). En la actualidad se ha presentado con efectos negativos en la producción una enfermedad conocida como punta morada de la papa cuyos síntomas son muy parecidos a los del PLRV el cual puede presentarse dentro de este síndrome como lo menciona Jensen (2004), que con estudios moleculares realizados con PCR para detección de fitoplasmas y virus del enrollamiento de la hoja (PLRV) muestran que 67 % de las plantas con síntomas severos de punta morada fueron positivos para el fitoplasma y 33 % dieron positivo para PLRV, las infecciones mixtas sólo ocurrieron en el 7 % de las muestras; la

presencia de plantas con síntomas leves de punta mostraron una incidencia más alta de PLRV que para fitoplasma, y las plantas con síntomas de PLRV con o sin síntomas leves de punta morada, fueron positivas aproximadamente en 20 %. La enfermedad punta morada de la papa (*Solanum tuberosum* L.) se encuentra distribuida en Canadá, Estados Unidos de América, México, Colombia, Guatemala y Perú (Calderoni, 1978). En 1954 se reporta en Canadá en la Isla Príncipe Eduardo (Robinson y Campbell, 1958), mientras que en nuestro país se le conoce desde los años 60's (Rodríguez, *et al.*, 1995). La enfermedad ha sido considerada como la segunda en importancia después del tizón tardío de la papa. En México la enfermedad se incrementó del 30 % en 1993 al 90 % de tubérculos dañados en 1995 (García, 1996). La punta morada de la papa está asociada a fitoplasmas (Almeida-León *et al.*, 1999), similares a los clasificados como 16SrI y 16SrII (Lee, 1998). Los síntomas inician con el cambio de coloración del verde al amarillo violáceo, en particular en los bordes de las hojas, a la par que los folíolos inmediatamente inferiores y más tarde los superiores se enrollan hacia arriba; el color púrpura es más intenso en aquellos cultivares que forman antocianinas (Calderoni, 1978), el tallo desarrolla necrosis cortical, deshilachamiento del tejido y decoloración vascular (Hooker, 1980), a medida que avanza la infección hay brotación anormal de yemas axilares, que se hinchan y forman tubérculos aéreos, en los tubérculos hay una coloración castaño claro en los tejidos vasculares, ablandamiento de todo el tubérculo y deformaciones (Calderoni, 1978). Debido a la similitud que presentan la punta morada y el virus del enrollamiento de la hoja se planteo como objetivo del trabajo mediante la técnica de DAS-ELISA detectar la presencia del virus del enrollamiento de la hoja en el desarrollo del síndrome de la punta morada en el ciclo del cultivo de papa.

MATERIALES Y METODOS.

Selección de localidades El presente experimento se realizó durante el ciclo primavera-verano del 2004 en las localidades La Concha, y en el Rancho San José de Contreras del municipio de Galena, Nuevo León, localizado a una latitud norte de 25° 3', una longitud oeste de 100° 37' y una altura de 1854 msnm. Se utilizó material vegetativo de papa de las variedades Gigant y Adora para evaluar la incidencia y severidad de punta morada, y la posterior detección del PLRV en laboratorio. Se realizaron cinco muestreos considerando las etapas fenológicas de surco verde, surco cerrado, floración, madurez y cosecha. En cada una de las localidades se evaluaron tres lotes quedando distribuidos para La Concha dos de variedad Gigant (lotes 1 y 3) y uno de Adora (lote 2); mientras que para el rancho San José de Contreras; se evaluaron dos de Adora (lotes 4 y 6) y un lote de Gigant (lote 5). En cada uno de los lotes se seleccionaron cinco puntos de muestreo examinando al azar 200 m lineales por punto para tomar 30 folíolos de acuerdo a lo indicado en la Norma Oficial Mexicana (NOM-041-FITO-2002); el material vegetativo obtenido de cada sitio se colocó en bolsas de papel encerado debidamente etiquetados, y colocados en una hielera para su conservación en el traslado al laboratorio; teniendo en cada evaluación cinco muestras por lote, lo que dio al final del ciclo 25 muestras por lote y un total de 150 muestras para analizar. Al realizar el muestreo se tomó la lectura de incidencia de plantas con síntomas de punta morada considerando como 100 % de la muestra 90 plantas observadas por lote (Guigon, 1994); además se evaluó la severidad de la enfermedad para lo cual se consideraron los síntomas descritos por Calderoni (1978), y se diseñó una escala donde: 0= Ausencia de la enfermedad, 1= Plantas con

tonalidades amarillas, 2= Plantas con tonalidades moradas, 3= Plantas con detención del crecimiento y brotación anormal de yemas axilares, 4= Plantas con engrosamiento de nudos y pequeños tubérculos aéreos, 5= Plantas con necrosis vascular en los tallos y tubérculos, 6= Plantas con apariencia de marchitez y tonalidades amarillentas a morado y muerte prematura.

Identificación del virus por DAS-ELISA. Para detectar la presencia de PLRV mediante la técnica de DAS-ELISA (sándwich doble-anticuerpo) en las muestras obtenidas con síntomas de punta morada, se tomó un gramo de hoja por cada uno de los puntos muestreados de los diferentes lotes. Se realizó la sensibilización de la placa paso que permite a los anticuerpos específicos para el virus sometido a prueba adherirse a la superficie de cada pozo de la placa de microtitulación, después se lavó el exceso de gammaglobulina no adsorbida y se adicionó la muestra quedando las partículas virales adheridas a los anticuerpos, posteriormente se agregó la enzima conjugada que se adherió a los anticuerpos; se añadió el sustrato enzimático a la placa, al final la reacción se cuantificó en el espectrofotómetro (BIO-RAD modelo 550) por lectura a 405 nm (Cruz, 1997). Se utilizaron anticuerpos (Agdia), a una concentración de 0.2 mg/ml diluido 1:200; y cada muestra se repitió por tres ocasiones.

Interpretación de resultados Para cuantificar la información y explicar el progreso de la enfermedad se utilizó el modelo epidemiológico logístico el cual se usa principalmente para epidemias que generan su propio inóculo durante el período de medición de la enfermedad. Este modelo tiene como supuesto biológico que la tasa

absoluta de intensidad de enfermedad (dy/dt) en cualquier punto en el tiempo (t) es una constante proporción de la cantidad de enfermedad (y) y del tejido enfermo o plantas aparentemente sanas ($1-y$) existente en ese tiempo (t). Y su representación es la siguiente: $dy/dt=r_L y(1-y)$, donde: (r_L) es el parámetro de tasa específico al modelo logístico o tasa de infección aparente (Van der Plank, 1963).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al final del ciclo del cultivo la incidencia de punta morada en los seis lotes fue muy alta, alcanzando hasta el 100 % de las plantas con síntomas de la enfermedad; a excepción del lote 2 del ejido la Concha en el cual el máximo alcanzado fue del 90% provocando pérdidas importantes por la reducción del rendimiento. En este sentido Flores *et al.* (2004) indican que en el Sur de Coahuila y Nuevo León, los rendimientos en el cultivo de papa se redujeron hasta en un 90 % perdiéndose el valor comercial debido al manchado interno de los tubérculos. De acuerdo al modelo logístico empleado el comportamiento de la punta morada y la presencia del PLRV se dio de una manera progresiva en función del tiempo (Tabla 1) observándose una R^2 de 0.69 a 0.74 lo que muestra una confiabilidad en los resultados de la incidencia en donde el tiempo influye de una manera significativa sobre el progreso de la curva de la enfermedad.

Tabla 1. Análisis logístico de las epidemias de punta morada y PLRV

LOTES	MODELO $E(y)=b_0 + b_1t$	R^2 , significancia	Significancia b_0 y b_1		Error estándar de b_1
LOTE1	$E(y)=(-9.829)+(0.142)t$	0.7317	0.0014	0.0016	0.03042
LOTE2	$E(y)=(-8.963)+(0.114)t$	0.6946	0.0012	0.0027	0.02691
LOTE3	$E(y)=(-10.30)+(0.146)t$	0.7802	0.0006	0.0007	0.02749
LOTE4	$E(y)=(-9.912)+(0.134)t$	0.7036	0.0014	0.0024	0.03073
LOTE5	$E(y)=(-11.80)+(0.159)t$	0.7303	0.0009	0.0016	0.03417
LOTE6	$E(y)=(-10.11)+(0.140)t$	0.7448	0.0009	0.0013	0.02900

En el lote 1 se manifestó un efecto significativo ($p = 0.0016$) en donde el valor de la incidencia final del cultivo llegó a ser del 100 % en la etapa de madurez de la planta; en este mismo estado fenológico el lote 2 llegó a la máxima incidencia alcanzada del 90 % con una $p = 0.0027$, el resto de los lotes alcanzaron el 100 % de la incidencia antes de llegar a cosecha, presentando el lote 3 una $p = 0.0007$ en el lote 4 una $p = 0.0024$ y para el 5 y el 6 el análisis nos mostró una $p = 0.0016$ y $p = 0.0013$ respectivamente (Figura 1) Los resultados obtenidos en el lote 2 con papa de la variedad Adora muestran una incidencia menor a los demás lotes, sin embargo el grado de severidad alcanzado a la madurez fue del nivel cinco con necrosis vascular en tallos y tubérculos, con un daño severo al cultivo; resultados similares se presentaron en los otros lotes, incluyendo aquellos sembrados con papa de la variedad Gigant que es señalada por Cázarez-Méndez *et al.* (2003) como una variedad tolerante a punta morada al no presentar manchado en los tubérculos. Los resultados obtenidos de incidencia y severidad de punta morada indican que si hay un nivel de daño alto en la planta para los lotes muestreados.

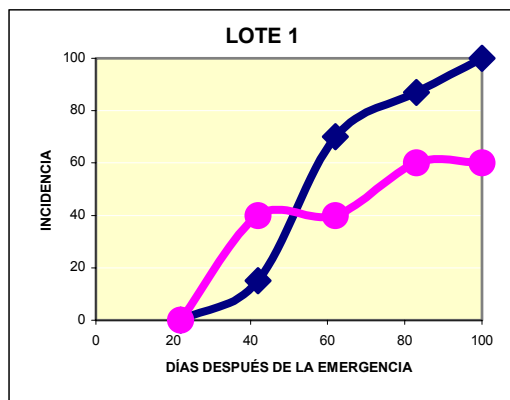


Figura 1.1 ● Incidencia PLRV en La Concha 20 ha Gigant
■ Incidencia Punta morada La Concha 20 ha Gigant

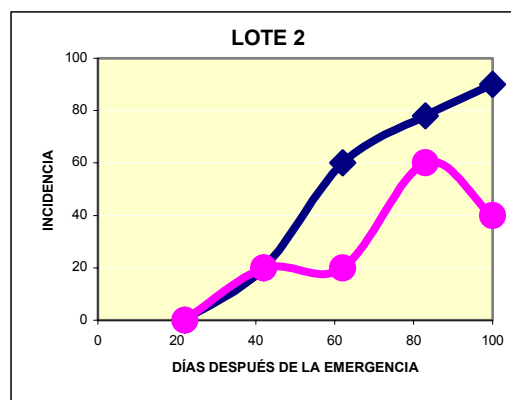


Figura 1.2 ● Incidencia PLRV en La Concha 10 ha Adora
■ Incidencia Punta morada La Concha 10 ha Adora

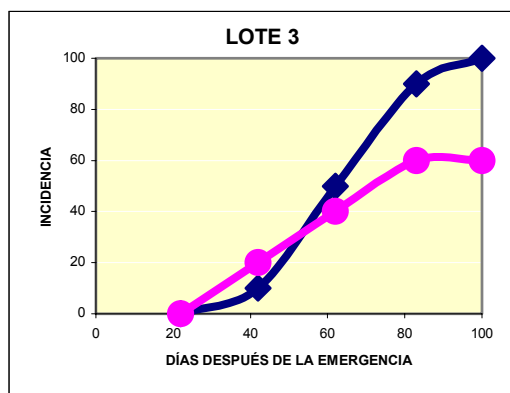


Figura 1.3 ● Incidencia PLRV en La Concha 10 ha Gigant
■ Incidencia Punta morada La Concha 10 ha Gigant

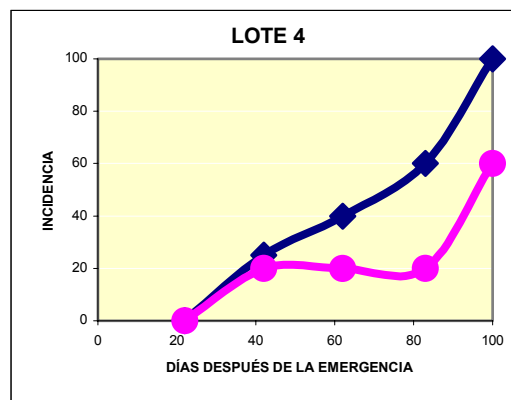


Figura 1.4 ● Incidencia PLRV en San José de Contreras var. Adora
■ Incidencia Punta morada en San José de Contreras var. Adora

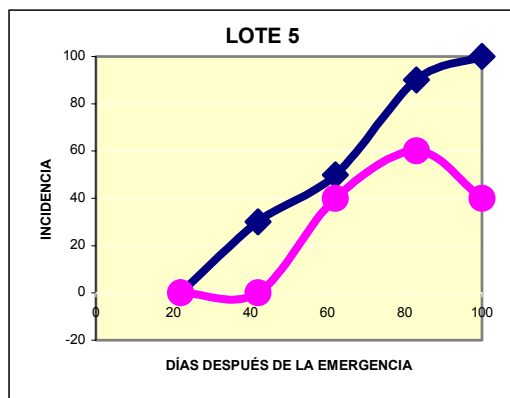


Figura 1.5 ● Incidencia PLRV San José de Contreras var. Gigant
■ Incidencia Punta morada en San José de Contreras var. Gigant

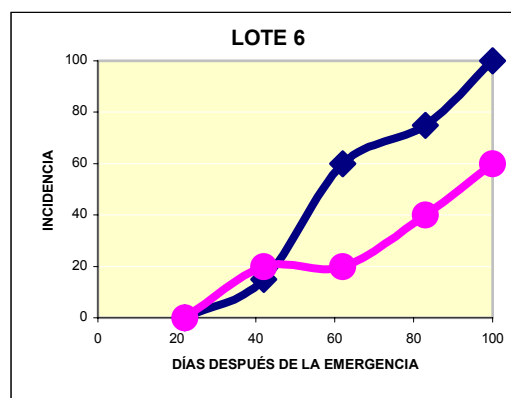


Figura 1.4 ● Incidencia PLRV en San José de Contreras var. Adora
■ Incidencia Punta morada en San José de Contreras var. Adora

Figura 1 Curva del comportamiento de la punta morada y del virus del enrollamiento de la hoja (PLRV) en función del tiempo.

La severidad de la enfermedad a los 100 días después de la siembra en el lote uno alcanzó el nivel cuatro presentando plantas con engrosamiento de nudos y pequeños tubérculos aéreos, el porcentaje de muestras positivas para PLRV fue de 40 %, En los otros cinco lotes la severidad en el cultivo se registró en el grado cinco, presentándose plantas con necrosis vascular en los tallos y tubérculos; en este caso la presencia de PLRV siendo el lote cuatro el que presentó menor incidencia con 24 % de virus siendo estos resultados congruentes con los obtenidos por Jensen (2004), quien señala que plantas con síntomas leves de punta morada normalmente son positivas a PLRV y que a mayor severidad en los síntomas de punta morada sólo se reduce la incidencia del virus (Figura 2). Para determinar si los tubérculos presentaban necrosis se realizaron cortes a la mitad de los tubérculos en cada lote y en aquellos en los que su grado de severidad fue cinco, el daño que se presentó no fue muy fuerte en especial en la variedad Gigant de acuerdo con Cázares-Méndez *et al.* (2003), el pardeamiento de los tubérculos de esta variedad es de ligero a moderado.

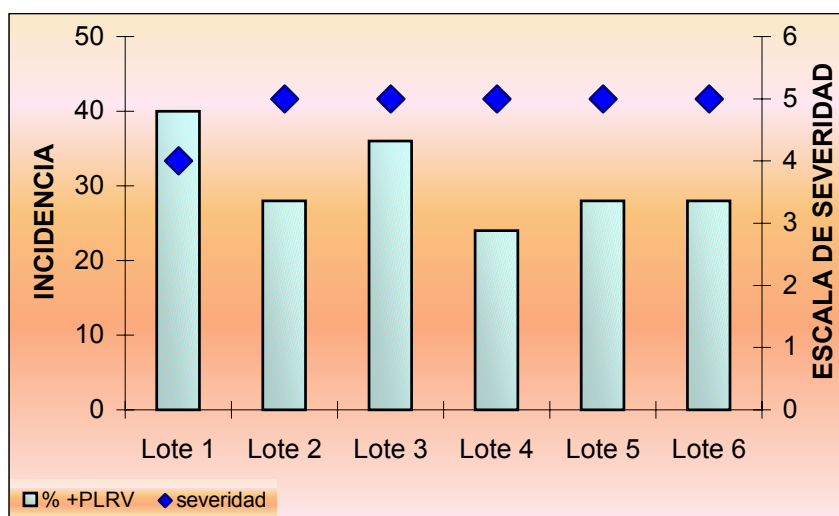


Figura 2. Severidad de punta morada en relación a la incidencia de PLRV al final del ciclo del cultivo tomando las 25 muestras por lote.

De 150 muestras analizadas que se procesaron con síntomas de punta morada 30.6 % fueron positivas PLRV, (Tabla 2); Los resultados indican que en la variedad Gigant se presentó una incidencia del 56.5 % mientras que en la incidencia sólo alcanzó el 43.5 % en la variedad Adora. Tomando en cuenta los resultados de PLRV el porcentaje de positivos fue menor que la incidencia de punta morada. Aquellos que tuvieron una densidad óptica mayor a 0.150 fueron considerados positivos por lo que la presencia del virus se presentó durante el desarrollo de la punta morada; no obstante en algunos lotes al final del ciclo la detección del virus bajó en las muestras, lo que pudo ser efecto del muestreo, o bien como mencionan Flanders *et al.* (1990), que muchos cultivares de papa a la madurez de la planta muestran una resistencia a PLRV.

Tabla 2 Muestras analizadas por DAS-ELISA para el virus del enrollamiento de la hoja

	M1*	M2	M3	M4	M5		M1*	M2	M3	M4	M5
**LOTE1P1	-	+	-	+	+	LOTE4P1	-	+	-	-	+
LOTE1P2	-	-	+	+	+	LOTE4P2	-	-	+	+	+
LOTE1P3	-	+	-	-	-	LOTE4P3	-	-	-	-	-
LOTE1P4	-	-	+	+	+	LOTE4P4	-	-	-	-	-
LOTE1P5	-	-	-	-	-	LOTE4P5	-	-	-	-	+
LOTE2P1	-	-	-	-	-	LOTE5P1	-	-	-	-	+
LOTE2P2	-	-	-	+	-	LOTE5P2	-	-	+	+	+
LOTE2P3	-	+	+	+	+	LOTE5P3	-	-	-	+	-
LOTE2P4	-	-	+	+	+	LOTE5P4	-	-	+	+	-
LOTE2P5	-	-	-	-	+	LOTE5P5	-	-	-	-	-
LOTE3P1	-	-	-	-	-	LOTE6P1	-	+	-	-	-
LOTE3P2	-	+	-	+	+	LOTE6P2	-	-	-	+	+
LOTE3P3	-	-	+	+	+	LOTE6P3	-	-	-	-	-
LOTE3P4	-	-	-	-	-	LOTE6P4	-	-	+	+	+
LOTE3P5	-	-	-	+	-	LOTE6P5	-	-	-	-	-

*M1 Representan cada uno de los muestreos analizados por DAS-ELISA. **LOTE 1P1 La Concha, variedad Gigant 20 ha y sus puntos muestreados. LOTE 2 La Concha, variedad Gigant 10 ha. LOTE 3 La Concha, variedad Adora 10 ha. LOTE 4 San José de Contreras, variedad Adora. LOTE 5 San José de Contreras, variedad Gigant. LOTE 6 San José de Contreras, variedad Adora.

LITERATURA CITADA.

Agrios, N.G. 1988. Plant Pathology. Third edition. Academic Press. London pp 803

Almeyda-León, I. H., Rubio-Cobarrubias, O. A., Cadena-Hinojosa, M. A., Díaz-Valasis, M., Zavala-Quintana, T., Rocha-Peña, M. A., y Díaz-Trujillo, A. 1999. Implementación de Técnicas para la detección del agente causal de la Punta Morada de la Papa en plantas e insectos vectores. Informe anual del proyecto de investigación. Laboratorio de Biotecnología Monterrey. CIR Noreste INIFAP. 20p.

Calderoni, A. V. 1978. Enfermedades de papa y su control. Editorial Hemisferio Sur S.A. Primera Edición, Buenos Aires Argentina. Pp 72-73

Cázarez-Méndez, I. G., de la Jara-Alcocer, F., Rodríguez-Dorantes, A. M., y Cadena Hinojosa, M. A. 2003. Comparación de patrones electroforéticos de proteínas e isoenzimas en tubérculos sanos y con síntomas de punta morada de siete variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.). Revista Mexicana de Fitopatología 21:1002-108.

Cruz F. M., Frías T. G. A. 1997. ELISA Guía ilustrada de la prueba de inmunoadsorción con enzimas para la detección de fitopatógenos. Subsecretaría de Agricultura y Ganadería. 22 p.

NOM-041-FITO-2002. Diario Oficial de la Federación. Marzo, 2003. Norma Oficial Mexicana, requisitos y especificaciones fitosanitarios para la producción de material propagativo asexual de papa.

Flores O. A., Alemán N. I. A., Notario Z. M. I. 2004. Alternativas para el manejo de la punta morada de la papa. Simposio Punta Morada de la papa. XXI Semana internacional del Parasitólogo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. pp 40-63

García, Q. J. R. 1996. Etiología y transmisión del obscurecimiento interno del tubérculo de papa (*Solanum tuberosum* L.) Para Industria. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. pp 29-34

Guigon L. C. 1994. Epidemiología de las enfermedades de la papa causadas por hongos fitopatógenos del suelo en el sur de Coahuila y Nuevo León. Tesis de Maestría de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista saltillo, Coahuila. pp 18-24

Hooker, W. J., 1980. Compendio de enfermedades de la papa. Centro Internacional de la Papa, Lima Perú. P 128

Jensen A., Hamm P., Thomas P., Crosslin J., Munyaneza J., Schrelber A., Pike K., 2004. Purple top, BLTVA, and Leafhoppers: An Update. Published by Washington State Potato Commission. IV (3): 2

Lee, I. M., Gunderson-Rindal, D. E., and Bertaccini, A. 1998. Phytoplasma: Ecology and genomic diversity. Symposium. New Perspectives on Phytopathogenic Mollicutes. *Phytopatology* 88:1350-1366

Marsh, T. L., Huffaker, R. G., Mittelhammer, R. C., Folwell R. J., Long, G. E., Horton D. R., and Toba, H. H. 1998. Potato Leafroll Virus Net Necrosis: Identifying Pest Magement Tradeoffs Among Inoculation Interval, Storage Length, and Tuber Weight. *Journal of Economical Entomology*. 91:923-932.

Martínez, S. J.P. 1999. La punta morada de la papa. Memorias del IX Congreso Nacional de Productores de Papa. León, Guanajuato, México. 16

Mihovilovich, C.E., 1996. Desarrollo e Identificación de clones parentales inmunes a los virus X e Y de la papa: Un éxito del mejoramiento. Centro Internacional de la Papa (Circular). 22 p.6.

Palmer, A., Jiménez, R., Montaña, J.J. (s.f.) Tutorial sobre el coeficiente de correlación lineal de Pearson. Facultad de Psicología. Universitat de les Illes Balears.

Parga T. V. M. 2004. Mejoramiento genético por resistencia a punta morada de la papa (*Solanum tuberosum* L.). Simposio Punta Morada de la papa. XXI Semana internacional del Parasitólogo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. pp 24-30

PROINPA. 1997. Como conocer y evitar la planta morada en el cultivo de la papa. Programa de Investigación de la Papa Instituto Boliviano de Tecnología Agropecuaria. Ficha técnica #9 Fitopatología. 5 p

Robinson, D. B. and Campbell J. E. 1958. Observations of purple to in potatoes in Prince Edward Island. *Plant Dis. Rptr.* 42: 337-338

Rodríguez, M.R.R., García Q., Cardenas, S.E. 1995. Etiología de la decoloración interna del tubérculo de papa. Memorias del VI Congreso Nacional de Productores de Papa. Saltillo, Coahuila, México. P 20

Smith, I.M. 1992. Manual de enfermedades de las plantas. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid España. Pp 46-47

Van der Plank, J. E. 1963. Plant diseases: Epidemics and control. Academic ----prees, New York, 344 p.

CONCLUSIONES GENERALES

Tanto en la variedad Gigant como en la Adora la incidencia de punta morada se incrementó notablemente en el período que abarca de surco cerrado a floración, el nivel de daño que se observó en el cultivo fue desde enrollamiento y clorosis de folíolos en la etapa de surco cerrado hasta plantas con entrenudos cortos y tubérculos aéreos y necrosis de tallos y tubérculos al final del ciclo del cultivo; provocándole a la planta una reducción en la producción de tubérculos los cuales eran muy pequeños y con nula aceptación en el mercado.

Dentro del síndrome se determinó la presencia del virus del enrollamiento de la hoja como otro factor que interviene en la manifestación de los síntomas de la punta morada de la papa, teniendo mayor incidencia en la variedad Gigant que en la Adora.

LITERATURA CITADA

- Agrios, N.G. 1988. Plant Pathology. Third edition. Academic Press. London pp 803
- Almeyda-León, I. H., Sánchez-Salas, J. A., Garzón-Tiznado, J. A. 2004 Detección molecular de fitoplasmas en papa. Simposio Punta Morada de la Papa. XXI Semana Internacional del Parasitólogo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. p 4-13.
- Alonso, A. F. 1996. El cultivo de la papa. Ediciones mundi-prensa. p 23-26, 145, 154-155.
- Ames, de I. T. 1980. Compendio de Enfermedades de la papa. Centro Internacional de la Papa The American Phytopathological Society. S. Paul, Minnesota, EUA. p. 95, 98, 127-128,
- Beukema, H. P., Turkensteen, L. J., Peeten, J. M. G. 2000. Potato explorer. Production, seed varieties, disease, storage, markets. NIVAA HOLLAN.
- Borror, D. J., DeLong, D. M., and Triplehom, C.A. 1981. An Introduction to the study of insects. Quinta edición. 827 pp.
- Bokx, J. A. 1980. Virosis de la papa y de la semilla de la papa. Instituto de Investigaciones Fipatológicas (IPO) Wageningen. Editorial Hemisferio Sur p. 165-168.
- Cadena-Hinojosa, M. A. 1993. La punta morada de la papa en México: I. Incidencia y Búsqueda de Resistencia. Agrociencia 4(2):247-256.
- Cadena-Hinojosa, M. A. 1996. La punta morada de la papa en México: II. Efecto de cubiertas flotantes, cultivares y productos químicos. Revista Mexicana de Fitopatología 14:20-24.
- Calderoni, Atilio V. 1978. Enfermedades de papa y su control. Editorial Hemisferio Sur S. A. Primera edición. Buenos Aires, Argentina. p 73.
- Cárdenas, S. E. 1999. Diagnóstico de virus mediante inclusiones virales, microscopía electrónica y rango de hospedantes. Colegio de Postgraduados Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, Montecillo, México. p 60.

- Cázares, M. I. G., de la Jara-Alcocer, F., Rodríguez-Dorantes, A.M., y Cadena-Hinojosa, M. A. 2003. Comparación de Patrones electroforéticos de proteínas e isoenzimas en tubérculos sanos y con síntomas de punta morada de siete variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.). Revista mexicana de Fitopatología 21:102-108.
- Cranshaw, W. S. 1993. Annotated Bibliography of Potato/Tomato Psyllid, *Paratrioza cockerelli* (Sulc.) (Homoptera: Psyllidae). Colorado State University Fort Collins. Agricultural Experiment Station Bulletin TB93-5. 52 p.
- D'Arcy, C. J. and Nault, LR. 1982. Insect Transmission of Plant Viruses and Mycoplasma-like and Rickettsial-like Organisms. Plant Disease.66(2):99-104
- Davis, R. E., and Sinclair, W. A. 1998. Phytoplasma identity and disease etiology. Phytopathology 88: 1372-1376.
- Difonzo, C. D., Ragsdale, D. W., Radcliffe, E. B., and Bantari, E. E. 1994. Susceptibility to potato leafroll virus in potato: Effects of cultivar, plant age at inoculation, and inoculation pressure on tuber infection. Plant Disease. 78: 1173-1177.
- Flores, O. A., Alemán, N. I. A., Notario, Z. M. I. 2004. Alternativas para el manejo de la punta morada de la papa. Simposio Punta Morada de la Papa. XXI Semana Internacional del Parasitólogo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. p 40-63.
- García, Q. J. R. 1996. Etiología y transmisión del oscurecimiento interno del tubérculo de papa (*Solanum tuberosum* L.) para industria. Tesis de Maestría. Montecillo, México Colegio de Postgraduados.
- Garzón, T. J. A., et al. 2004. *Bactericera cockerelli* Sulc, vector de Fitoplasmas en México. Simposio Punta Morada de la Papa. XXI Semana Internacional del Parasitólogo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. p 64-83.
- Green, M. J., Thompson, D. A., and MacKenzie, D. J. 1999. Easy and efficient DNA extraction from woody Plants for the detection of Phytoplasma by polymerase Chain Reaction. Plant disease. 83:482-485
- Hadidi, A., Montasser, M. S., Levy, L., Goth, R. W., Converse, R. H., Madkour, M. A., and Skrzeczkowski, L. J. 1993. Detection of potato leafroll and strawberry mild yellow-edge luteoviruses by reverse transcription-polymerase chain reaction amplification. Plant Disease.75.595-601
- Horton, D. 1992. La papa: Producción, comercialización y programas. Copublicación de Centro Internacional de la papa (CIP). Lima. p 28

- Izquierdo, O. H. 2002. El PSTV un patógeno de importancia en el cultivo de la papa. Instituto de Investigaciones Hortícolas “Liliana Dimitrova” Universidad de la Habana. Notas. p 50-61.
- Jensen, A., Hamm, P., Thomas P., Crosslin J., Munyaneza, J., Schrelber, A., Pike, K. 2004. Purple top, BLTVA, and Leafhoppers: An Update. Published by Washington State Potato Commission. IV (3):2
- Johnson, D. A., and Pappu, H. s.f. Potato leaf roll. Department of Plant Pathology, Washington State University, Pullman, WA 99164-6430.
- Korschinerk, I. *et al.* 1991. J. Virology. Methods. 31:139-146
- Lee, I. M., A. Bertaccini, M. Vibio y D. E. Gundersen.1995. Detection of múltiple phytoplasmas in perennial fruit trees with decline symptoms in Italy. Phytopathology 85: 728-735.
- Leyva, L. N. E., Ochoa, S. J. C., Leal-Klevezas, D. S., and MartínezJ. P. 2002. Múltiple Phytoplasmas associated with Potato Diseases in México. Canadian Journal of Microbiology. 48: 1062-1068.
- Lucas, W. J., Gilbertson, R. L. 1994. Plasmodesmata in relation to viral movement within leaf tisúes. Annual Review Phytopathology. 32: 387-411.
- Maiti, R. K., and Singh, V. P. 2002. Advances in potato science. The Gaurav society of agricultural research information CentreHisar, India. p 2.
- Maramorosch, K. 1998. Potato purple top wilt. Segundo simposium Internacional de Papa. Toluca, México.
- Maramorosch, K. and Raychaudhuri, S. P. 1988. Mycoplasma diseases of crops. Basic and applied aspects. Por Springer-Verlag. New York, Inc. P 293.
- Marín, J. A. 2004. Biología, ecología e identificación de insectos vectores en cultivo de papa. Simposio Punta Morada de la Papa. XXI Semana Internacional del Parasitólogo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. p 84-96.
- Marsh, T. L., Huffaker, R. G., Mittelhammer, R. C., Folwell, R. J., Long, G. E., Horton, D. R., and Toba, H. H. 1998. Potato leafroll virus net necrosis: identifying pest management tradeoffs among inoculation interval, storage length, and tuber weight. Journal of Economic Entomology. 91(4):923-932.
- Martínez, S. J. P. 1999. La punta morada de la papa IX Congreso Nacional de Productores de Papa, Memorias, León Guanajuato, México.
- Mowry, T. M. 1995. Within-plant accumulation of potato Leaf roll virus by naggregated green peach aphid feeding. Phytopathology. 85: 859-863.

- Osuna-Espinoza, M. A. 1999. Determinación de la incidencia y severidad de punta morada en tres localidades en el municipio de Galeana, Nuevo, León. Tesis de Licenciatura. UAAAN, Saltillo, Coahuila, México. p 9-21.
- Parga, T. V. M., 2004. Mejoramiento genético por resistencia a punta morada de la papa (*Solanum tuberosum* L.). Simposio Punta Morada de la Papa. XXI Semana Internacional del Parasitólogo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. p 24-30.
- Pérez, M. L., y Rico, J. E. 2004. Virus fitopatógenos en cultivos hortícolas de importancia económica en el estado de Guanajuato. Universidad de Guanajuato, Instituto de Ciencias Agrícolas. Primera edición. p. 36
- Presting, G. G., Smith, O. P. and Brown, Ch. R. 1995. Resistance to potato leafroll virus in potato plants transformed with the coat protein gene or with vector control constructs. *Phytopathology*. 85:436-442.
- PROINPA. 1997. Como reconocer y evitar la planta morada en el cultivo de la papa. Ficha técnica # 9 Fitopatología. Instituto Boliviano de Tecnología Agropecuaria. Programa de investigación de la papa.
- Rhodes, R. E. 1982. The incredible potato. *National Geographic*. 161: 668-694
- Rodríguez, M. R. R., García, Q. Y Cárdenas, S. E. 1995. Etiología de la decoloración interna del tubérculo de papa. Memorias de trabajos presentados en el VI Congreso Nacional de Productores de Papa. p 96.
- Rousselle, P., Robert, Y., Crosnier, J. C. 1999. La Patata. Ediciones Mundi-Prensa. España. p. 53, 68, 242-244, 289.
- Rowe, R.C. 1993. Potato Health Management: A Holistic Approach. Department of Plant Pathology Ohio State University Wooster. *Plant Health Management Series*. pp 3, 119-120, 128, 130.
- Salazar, L. F. 1996. Los virus de la papa y su control. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú. 226 p.
- Salazar, L. F. 1997. Identificación y control de enfermedades virales y fitoplasmas de la papa. Simposium Internacional de la Papa. Metepec, Estado de México. 25 y 26 de agosto.
- Sánchez, S. J. A., Almeyda, L. I. H. 2004. Diagnóstico de las especies de vectores y su interrelación con el fitoplasma agente causal de la enfermedad punta morada en las regiones paperas de Coahuila y Nuevo León. Simposio Punta Morada de la Papa. XXI Semana Internacional del Parasitólogo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. p 14-23

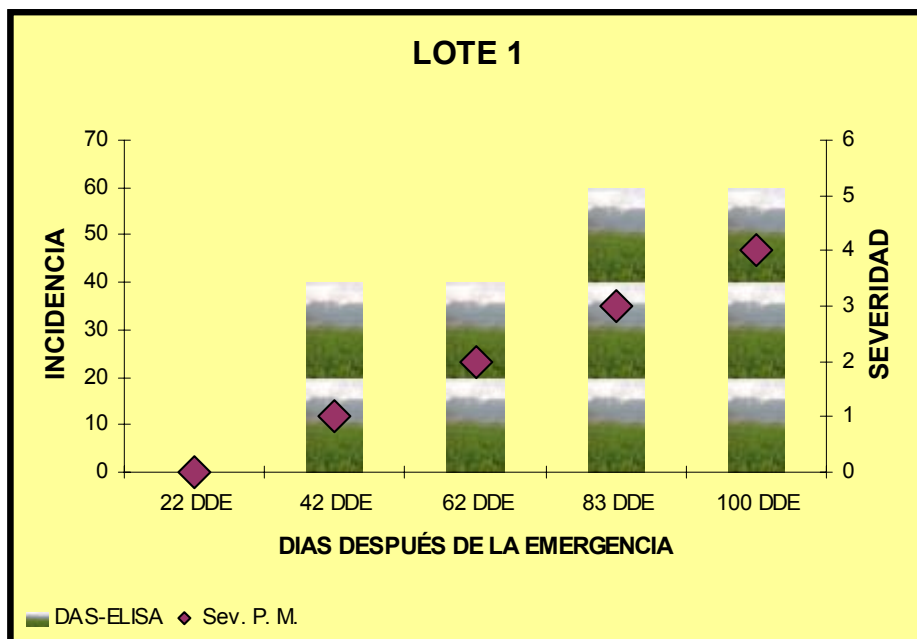
- Singh, R. P. and Somerville, T. H. 1992. Evaluation of the enzyme-amplified ELISA for the detection of potato viruses A, M, S, X, Y, and leafroll. *American Potato Journal*. 69:21-29.
- Smith, I. M., 1992. *Manual de Enfermedades de las plantas*. Ediciones Mundi-Prensa. p 46-47.
- Valenzuela, H. V., Redondo-Juárez, E., y Bujanos-Muñiz, R. 2003. Detección de virus por serología y plantas indicadoras en el tubérculo-semilla y plantas de cultivo de mesristemos en papa (*Solanum tuberosum* L.) var: Alfa. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21: 176-180.
- Walkey, D. G. A. 1991. *Applied Plant Virology*. Segunda edición. p36
- White, I. M. y Hodkinson, I. D. 1985. Nymphal taxonomy and systematics of the Psylloidea (Homoptera). *Bull. Brit. MUS. NAT. History (Ent.)* 50(2):153-301.

PAGINAS WEB CONSULTADAS

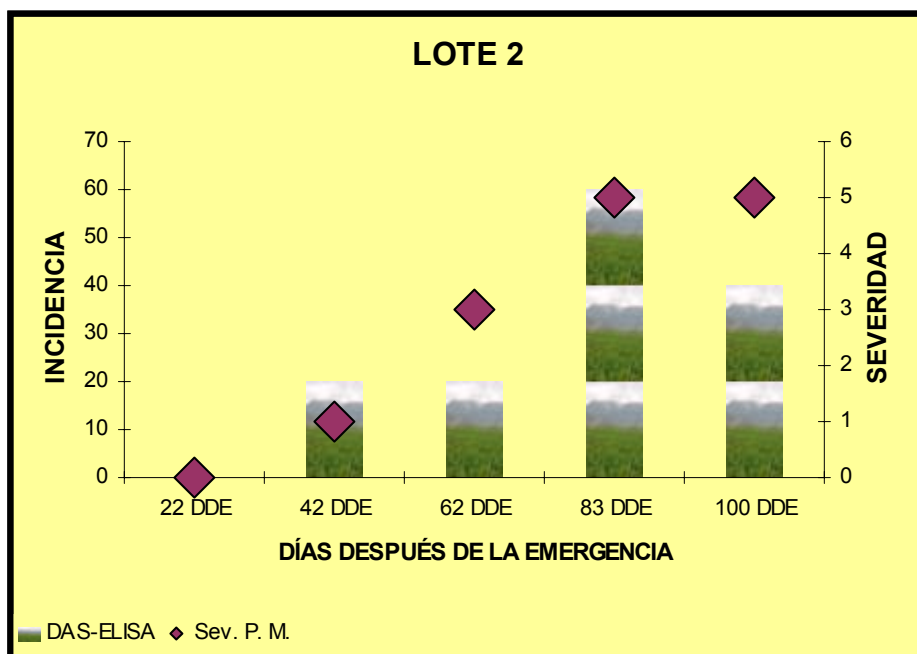
1. <http://www.wsu.edu/~potatoes/leafroll.htm>
2. <http://www.agrarias.uach.cl/webpapa/pag15.html>
3. <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/InfOmer/analisis/Anpapa.html>
4. Acosta, O., Schuler, I., Angarita, A., Franco, L., Barker, H., Mayo, M. s.f. Obtención de plantas transgénicas de papa resistentes al virus X de la papa y al virus del enrollamiento de la hoja mediante transformación con *Agrobacterium tumefaciens*.
<http://www.colciencias.gov.co/simbiosis/proyectos/transgenicapapa.htm>
5. Etkin, Larry. s.f. Potato research finds clue to dark chips. *Minnesota Science*. Vol 43(2). <http://www.maes.umn.edu/mnsci/v43n2s1.asp>
6. García-de la Rosa, J., Flores-Nava, A. 2002. Potato Purple Top. Pfizer, México.
<http://www.redepapa.org/nava.pdf>
7. Garzón, T. J. A. 2002. El papel de la *Paratrypanosoma cockerelli* en la transmisión de Fitoplasmas en tomate. Fundación PRODUCE, Artículo del campo experimental Valle de Culiacán del UNFPA.
<http://www.fps.org.mx/cgi/articles.cgi?Action=View&>

APÉNDICE A

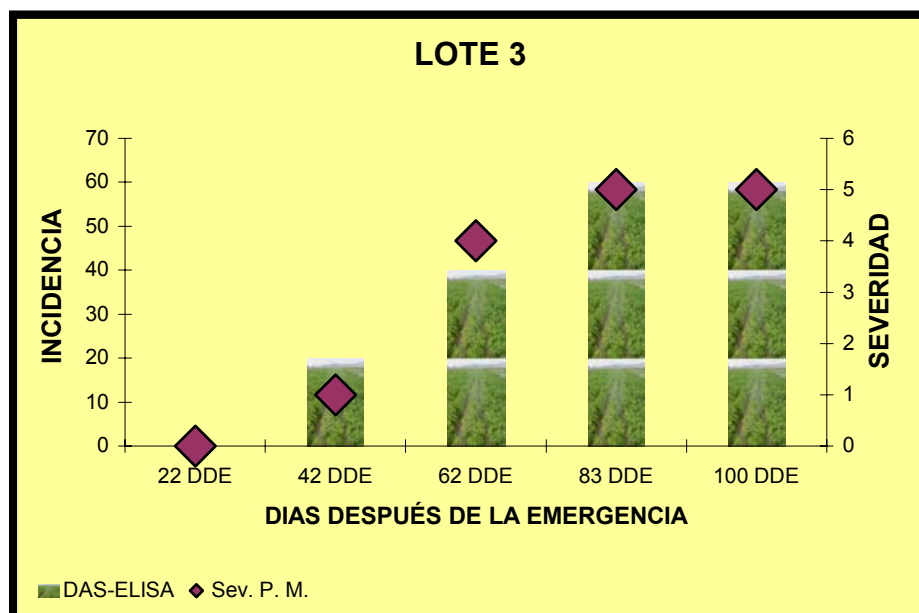
**GRÁFICAS DE LA SEVERIDAD DE PUNTA MORADA Y
LA INCIDENCIA DE MUESTRAS POSITIVAS A PLRV**



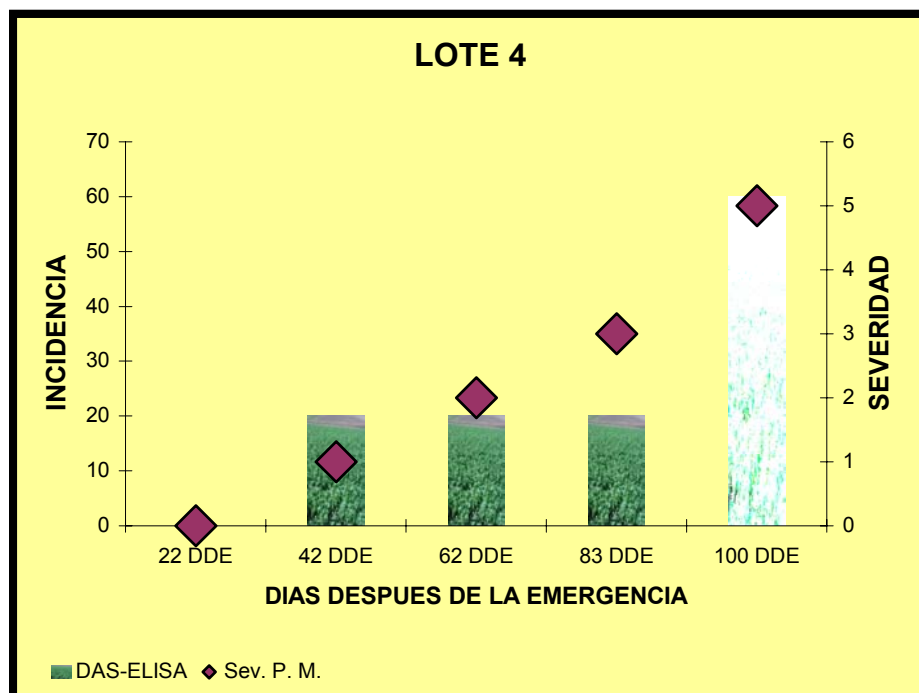
Severidad de punta morada del cultivo y la incidencia de PLRV de acuerdo con los resultados de DAS-ELISA en cada uno de los muestreos para el lote uno de La Concha en la variedad Gigant.



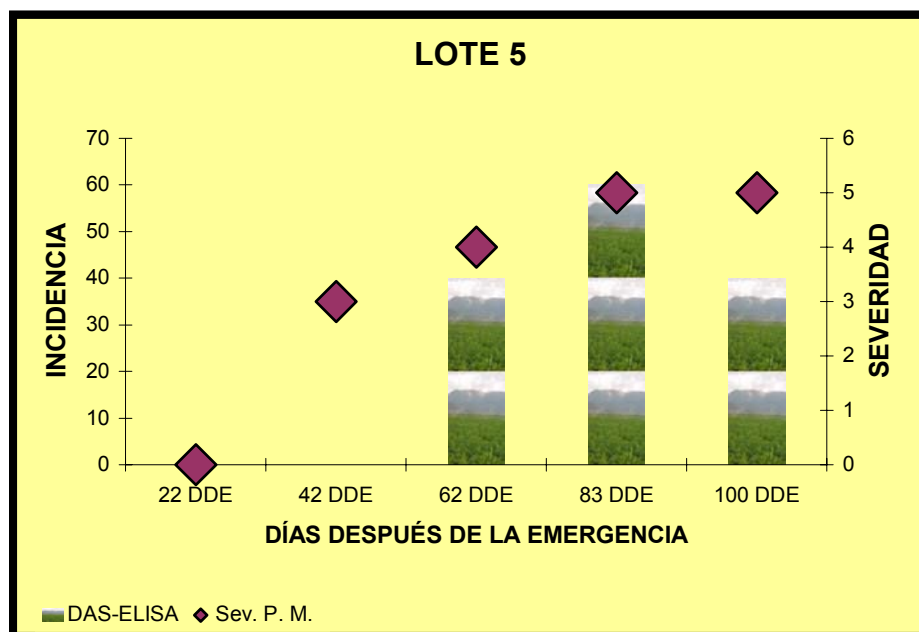
Severidad de punta morada del cultivo y la incidencia de PLRV de acuerdo con los resultados de DAS-ELISA en cada uno de los muestreos para el lote dos de La Concha en la variedad Adora.



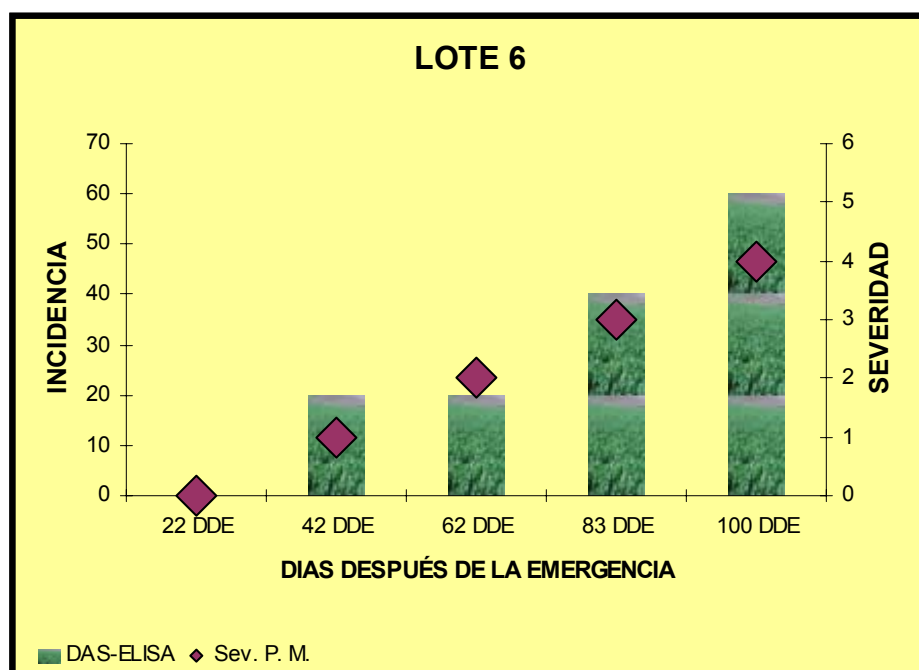
Severidad de punta morada del cultivo y la incidencia de PLRV de acuerdo con los resultados de DAS-ELISA en cada uno de los muestreos para el lote tres de La Concha en la variedad Gigant.



Severidad de punta morada del cultivo y la incidencia de PLRV de acuerdo con los resultados de DAS-ELISA en cada uno de los muestreos para el lote cuatro de San José de Contreras en la variedad Adora.



Severidad de punta morada del cultivo y la incidencia de PLRV de acuerdo con los resultados de DAS-ELISA en cada uno de los muestreos para el lote cinco de San José de Contreras en la variedad Gigant.



Severidad de punta morada del cultivo y la incidencia de PLRV de acuerdo con los resultados de DAS-ELISA en cada uno de los muestreos para el lote seis de San José de Contreras en la variedad Adora.

APÉNDICE B

INCIDENCIA DE PUNTA MORADA

Por ciento de incidencia de punta morada que se presentó en cada uno de los lotes según las lecturas tomadas en las diferentes fechas de muestreo.

	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3	Muestreo 4	Muestreo 5
	20/03/2004	04/04/2004	30/04/2004	20/05/2004	09/06/2004
<u>LOTE</u>	<u>0</u>	<u>15</u>	<u>70</u>	<u>100</u>	<u>100</u>
<u>1</u>					
<u>LOTE</u>	<u>0</u>	<u>20</u>	<u>60</u>	<u>90</u>	<u>90</u>
<u>2</u>					
<u>LOTE</u>	<u>0</u>	<u>10</u>	<u>50</u>	<u>90</u>	<u>100</u>
<u>3</u>					
<u>LOTE</u>	<u>0</u>	<u>25</u>	<u>40</u>	<u>60</u>	<u>100</u>
<u>4</u>					
<u>LOTE</u>	<u>0</u>	<u>30</u>	<u>50</u>	<u>90</u>	<u>100</u>
<u>5</u>					
<u>LOTE</u>	<u>0</u>	<u>15</u>	<u>60</u>	<u>75</u>	<u>100</u>
<u>6</u>					

APÉNDICE C

TABLA DE LA DENSIDAD ÓPTICA DE LAS MUESTRAS

PROCESADAS POR DAS-ELISA

Ejido La Concha, Navidad, Nuevo León, Pivote la Palapa

Fecha de siembra: 12, 16, 17 Marzo 2004

Lote 1. 20 ha de Gigant

Resultados del análisis por DAS-ELISA tomando como positivos aquellos de densidad óptica mayor a 0.150

	MUESTREO 1				MUESTREO 2				MUESTREO 3				MUESTREO 4				MUESTREO 5			
	R1	R2	R3	\bar{x}	R1	R2	R3	\bar{x}	R1	R2	R3	\bar{x}	R1	R2	R3	\bar{x}	R1	R2	R3	\bar{x}
PUNTO 1	0.091	0.095	0.09	0.092	0.187	0.185	0.185	0.186	0.084	0.085	0.081	0.083	0.18	0.178	0.179	0.179	0.162	0.162	0.165	0.163
PUNTO 2	0.093	0.08	0.085	0.086	0.07	0.061	0.07	0.067	0.188	0.186	0.188	0.187	0.191	0.19	0.193	0.191	0.165	0.167	0.164	0.165
PUNTO 3	0.082	0.084	0.087	0.084	0.197	0.197	0.199	0.198	0.076	0.077	0.089	0.081	0.079	0.095	0.1	0.091	0.1	0.093	0.101	0.098
PUNTO 4	0.081	0.082	0.092	0.085	0.076	0.067	0.087	0.077	0.178	0.176	0.179	0.178	0.199	0.183	0.2	0.194	0.181	0.183	0.182	0.182
PUNTO 5	0.078	0.077	0.077	0.077	0.076	0.068	0.077	0.074	0.08	0.068	0.074	0.074	0.111	0.107	0.1	0.106	0.095	0.093	0.087	0.82
POSITIVO		0.23								0.23				0.22				0.23		
NEGATIVO		0.051							0.05					0.05				0.051		

Ejido La Concha, Navidad, Nuevo León, Pivote la Palapa

Fecha de siembra: 12, 16, 17 Marzo 2004

Lote 2. 10 ha de Adora

Resultados del análisis por DAS-ELISA tomando como positivos aquellos de densidad óptica mayor a 0.150

	MUESTREO 1				MUESTREO 2				MUESTREO 3				MUESTREO 4				MUESTREO 5			
	R1	R2	R3	\bar{x}	R1	R2	R3	\bar{x}	R1	R2	R3	\bar{x}	R1	R2	R3	\bar{x}	R1	R2	R3	\bar{x}
PUNTO 1	0.083	0.084	0.082	0.083	0.083	0.073	0.075	0.077	0.083	0.066	0.88	0.079	0.072	0.08	0.085	0.079	0.101	0.105	0.209	0.138
PUNTO 2	0.08	0.075	0.086	0.080	0.193	0.189	0.185	0.189	0.111	0.112	0.099	0.107	0.189	0.185	0.188	0.187	0.179	0.177	0.178	0.178
PUNTO 3	0.077	0.076	0.078	0.077	0.069	0.075	0.083	0.076	0.169	0.169	0.172	0.170	0.176	0.149	0.177	0.167	0.177	0.174	0.175	0.175
PUNTO 4	0.08	0.082	0.081	0.081	0.077	0.065	0.072	0.71	0.071	0.66	0.071	0.069	0.074	0.073	0.065	0.071	0.105	0.103	0.095	0.101
PUNTO 5	0.076	0.074	0.069	0.073	0.076	0.076	0.07	0.74	0.09	0.085	0.093	0.089	0.178	0.175	0.176	0.176	0.107	0.101	0.107	0.105
POSITIVO		0.23				0.21				0.23				0.22				0.23		
NEGATIVO		0.051				0.052				0.05				0.55				0.051		

Ejido La Concha, Navidad, Nuevo León, Pivote la Palapa

Fecha de siembra: 12, 16, 17 Marzo 2004

Lote 3. 10 ha de Gigant

Resultados del análisis por DAS-ELISA tomando como positivos aquellos de densidad óptica mayor a 0.150

	MUESTREO 1				MUESTREO 2				MUESTREO 3				MUESTREO 4				MUESTREO 5			
	R1	R2	R3	\bar{x}	R1	R2	R3	\bar{x}	R1	R2	R3	\bar{x}	R1	R2	R3	\bar{x}	R1	R2	R3	\bar{x}
PUNTO 1	0.085	0.075	0.07	0.077	0.08	0.067	0.106	0.084	0.073	0.071	0.073	0.072	0.065	0.07	0.08	0.072	0.089	0.087	0.093	0.090
PUNTO 2	0.086	0.08	0.083	0.083	0.07	0.07	0.069	0.070	0.063	0.06	0.068	0.064	0.179	0.183	0.184	0.182	0.105	0.104	0.098	0.102
PUNTO 3	0.082	0.084	0.083	0.083	0.176	0.181	0.18	0.179	0.21	0.209	0.211	0.210	0.221	0.218	0.22	0.220	0.174	0.168	0.166	0.169
PUNTO 4	0.081	0.082	0.079	0.081	0.076	0.07	0.088	0.078	0.179	0.186	0.185	0.183	0.189	0.193	0.195	0.192	0.172	0.176	0.17	0.173
PUNTO 5	0.078	0.076	0.075	0.076	0.076	0.082	0.085	0.081	0.1	0.099	0.102	0.100	0.148	0.149	0.144	0.147	0.186	0.184	0.187	0.186
POSITIVO		0.23				0.21				0.23				0.22				0.23		
NEGATIVO		0.051				0.052				0.05				0.05				0.051		

Ejido San José de Contreras, Navidad, Nuevo León.

Ganadera Agrícola del Noreste. S. A. de C. V.

Fecha de siembra: 27 de febrero Lote 4. Adora

Resultados del análisis por DAS-ELISA tomando como positivos aquellos de densidad óptica mayor a 0.150

	MUESTREO 1				MUESTREO 2				MUESTREO 3				MUESTREO 4				MUESTREO 5			
	R1	R2	R3	\bar{x}	R1	R2	R3	\bar{x}	R1	R2	R3	\bar{x}	R1	R2	R3	\bar{x}	R1	R2	R3	\bar{x}
PUNTO 1	0.066	0.07	0.068	0.068	0.179	0.176	0.178	0.178	0.089	0.077	0.074	0.080	0.102	0.096	0.1	0.099	0.176	0.178	0.179	0.178
PUNTO 2	0.073	0.069	0.072	0.071	0.074	0.077	0.073	0.075	0.189	0.19	0.193	0.191	0.182	0.188	0.184	0.185	0.264	0.166	0.163	0.164
PUNTO 3	0.062	0.059	0.06	0.060	0.075	0.065	0.072	0.071	0.076	0.071	0.077	0.075	0.069	0.074	0.067	0.070	0.098	0.096	0.097	0.097
PUNTO 4	0.067	0.07	0.069	0.069	0.073	0.084	0.077	0.078	0.086	0.08	0.073	0.080	0.08	0.068	0.071	0.073	0.09	0.098	0.093	0.093
PUNTO 5	0.054	0.068	0.06	0.061	0.08	0.084	0.075	0.080	0.067	0.07	0.068	0.068	0.082	0.074	0.076	0.077	0.171	0.175	0.171	0.171
POSITIVO		0.23				0.21				0.23				0.22				0.23		
NEGATIVO		0.051				0.052				0.05				0.05				0.051		

Ejido San José de Contreras, Navidad, Nuevo León.

Ganadera Agrícola del Noreste. S. A. de C. V.

Fecha de siembra: 27 de febrero Lote 5. Gigant

Resultados del análisis por DAS-ELISA tomando como positivos aquellos de densidad óptica mayor a 0.150

	MUESTREO 1				MUESTREO 2				MUESTREO 3				MUESTREO 4				MUESTREO 5			
	R1	R2	R3	\bar{X}	R1	R2	R3	\bar{X}	R1	R2	R3	\bar{X}	R1	R2	R3	\bar{X}	R1	R2	R3	\bar{X}
PUNTO 1	0.07	0.071	0.072	0.071	0.09	0.081	0.083	0.085	0.076	0.075	0.074	0.075	0.082	0.07	0.075	0.076	0.176	0.177	0.173	0.175
PUNTO 2	0.068	0.065	0.07	0.068	0.07	0.088	0.073	0.077	0.192	0.187	0.189	0.189	0.177	0.174	0.178	0.176	0.165	0.168	0.169	0.167
PUNTO 3	0.067	0.058	0.06	0.062	0.083	0.079	0.07	0.077	0.077	0.075	0.071	0.074	0.198	0.196	0.199	0.198	0.085	0.077	0.087	0.083
PUNTO 4	0.072	0.068	0.066	0.069	0.076	0.076	0.07	0.074	0.193	0.19	0.188	0.190	0.21	0.209	0.213	0.211	0.086	0.088	0.087	0.087
PUNTO 5	0.065	0.07	0.068	0.068	0.07	0.071	0.068	0.070	0.069	0.071	0.066	0.069	0.074	0.075	0.079	0.076	0.078	0.083	0.084	0.082
POSITIVO		0.23				0.21				0.23				0.22				0.23		
NEGATIVO		0.051				0.052				0.05				0.05				0.051		

Ejido San José de Contreras, Navidad, Nuevo León.

Ganadera Agrícola del Noreste. S. A. de C. V.

Fecha de siembra: 27 de febrero Lote 6. Adora

Resultados del análisis por DAS-ELISA tomando como positivos aquellos de densidad óptica mayor a 0.150

	MUESTREO 1				MUESTREO 2				MUESTREO 3				MUESTREO 4				MUESTREO 5			
	R1	R2	R3	\bar{X}	R1	R2	R3	\bar{X}	R1	R2	R3	\bar{X}	R1	R2	R3	\bar{X}	R1	R2	R3	\bar{X}
PUNTO 1	0.062	0.06	0.069	0.064	0.078	0.066	0.068	0.071	0.069	0.066	0.066	0.067	0.079	0.07	0.08	0.076	0.18	0.182	0.183	0.182
PUNTO 2	0.059	0.063	0.065	0.062	0.168	0.169	0.166	0.168	0.073	0.071	0.07	0.071	0.159	0.164	0.167	0.163	0.175	0.174	0.176	0.175
PUNTO 3	0.057	0.062	0.07	0.063	0.065	0.084	0.069	0.073	0.06	0.096	0.07	0.075	0.076	0.069	0.08	0.075	0.085	0.089	0.094	0.089
PUNTO 4	0.067	0.068	0.066	0.067	0.074	0.077	0.059	0.070	0.182	0.18	0.179	0.180	0.178	0.169	0.18	0.176	0.175	0.176	0.178	0.176
PUNTO 5	0.07	0.069	0.071	0.070	0.054	0.061	0.061	0.059	0.074	0.073	0.08	0.076	0.09	0.084	0.086	0.087	0.093	0.088	0.091	0.091
POSITIVO		0.23				0.21				0.23				0.22				0.23		
NEGATIVO		0.051				0.052				0.05				0.05				0.051		

Virus del Enrollamiento de la Hoja de Papa y su detección en el Síndrome de la Punta Morada

Lidia Monserrat Flores-Torres, Abiel Sánchez-Arizpe, Alberto Flores-Olivas, Francisco Daniel Hernández-Castillo, Antonio Cárdenas-Elizondo, Abenamar Jordan Zúñiga-Alvarez Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Depto. De Parasitología Agrícola, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. CP 25315, **Victor Manuel Parga-Torres**, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Apdo. postal 150. Y **Emilio Padrón-Corral**, Centro de Investigación en Matemáticas Aplicadas, Universidad Autónoma de Coahuila, Saltillo, Coahuila, México CP 25100

Resumen. Se utilizó material vegetativo de papa de las variedades Gigant y Adora para evaluar la incidencia y severidad de punta morada, y la detección del PLRV en laboratorio; se realizaron cinco muestreos tomando en cuenta la fenología de la planta, la severidad se evaluó en base a una escala que se diseñó para este fin. La incidencia de punta morada se tomó en campo analizando 90 plantas por lote. Para la detección del virus del enrollamiento de la hoja se usó la técnica de DAS-ELISA. La severidad que se presentó en la mayoría de los lotes fue alta alcanzando un nivel cinco. La incidencia de la punta morada se fue incrementando conforme pasaba el ciclo del cultivo, teniendo para madurez y cosecha una incidencia de hasta un 100 por ciento en los diferentes lotes evaluados. De las 150 muestras analizadas con síntomas de punta morada, 30.6 por ciento fueron positivas al virus del enrollamiento de la hoja, de acuerdo a los resultados de la técnica DAS-ELISA.

Palabras claves adicionales: papa, PLRV, DAS-ELISA, incidencia, severidad

Abstract. Vegetative material of potato of the varieties Gigant and Adora were used to evaluate the incidence and severity of purple top, and detection of the PLRV in laboratory; were carried five samplings taking into account the life of the plant, the severity was evaluated based on a scale that was designed for this purpose. The incidence of purple top took in field analyzing 90 plants for lot. For the detection of the potato leaf roll virus the technique was used DAS-ELISA. The severity presented in majority of the lots was high reaching a level five. The incidence of the purple top increased in the course of the cycle, having for maturity and harvests an incidence of until 100% in the evaluated lots. Of the 150 analyzed samples that were processed with symptoms of purple top 30.6% went positive to the potato leaf roll virus, according to the technical DAS-ELISA results.

Additional key words: potato, (PLRV), DAS-ELISA, incidence, severity.

INTRODUCCIÓN

El virus del enrollamiento de la hoja se encuentra distribuido a nivel mundial constituyendo una limitación en el rendimiento del cultivo (Mihovilovich, 1996), causa reducciones del 50-80 % en la producción de tubérculos y las pérdidas promedio se han estimado en un 10% lo que equivale a unos 20 millones de toneladas de papa cada año en todo el mundo (Smith, 1992). En las zonas paperas de Bolivia, en 1985 se presentó una variante del PLRV que ocasionó una enfermedad denominada planta morada con incidencias del 100 % y una reducción del

rendimiento entre 30 y 66 %. PLRV es un luteovirus (Francki, *et al.*, 1991), transmitido de manera circulativa y persistente por áfidos, siendo el más eficiente *Myzus persicae* (Sulzer) (Van den Heuvel *et al.*, 1993). El virus presenta partículas isométricas de 25 nm de diámetro (Harrison, 1984); está confinado al floema de las plantas infectadas y no es transmitido por inoculación de savia o mecánicamente (Robertson, *et al.*, 1991). Las infecciones reducen el rendimiento y en algunos cultivares el PLRV causa necrosis en los tubérculos (Difonzo, 1994), desarrolla una red de color castaño en el tejido del tubérculo (Marsh, 1998). Muchos cultivares de papa, incluso aquellos que presentan alta susceptibilidad al virus exhiben en la madurez de la planta una resistencia a PLRV (Flanders *et al.*, 1990). Este virus presenta algunos síntomas muy similares a los reportados para la punta morada como brotes de tubérculos infectados delgados y débiles, la antocianescencia (coloración morada) es el síntoma típico de esta enfermedad, folíolos pequeños, raquis y pecíolos erectos, entrenudos cortos, enrollamiento de folíolos, clorosis generalizada en hojas que aún no se tornan moradas (PROINPA, 1997), además en algunas variedades el floema se necrosa y se observa una acumulación de carbohidratos en las hojas, y necrosis en los tubérculos (Agrios, 1988). En la actualidad se ha presentado con efectos negativos en la producción una enfermedad conocida como punta morada de la papa cuyos síntomas son muy parecidos a los del PLRV el cual puede presentarse dentro de este síndrome como lo menciona Jensen (2004), que con estudios moleculares realizados con PCR para detección de fitoplasmas y virus del enrollamiento de la hoja (PLRV) muestran que 67 % de las plantas con síntomas severos de punta morada fueron positivos para el fitoplasma y 33 % dieron positivo para PLRV, las infecciones mixtas sólo ocurrieron en el 7 % de las muestras; la

presencia de plantas con síntomas leves de punta mostraron una incidencia más alta de PLRV que para fitoplasma, y las plantas con síntomas de PLRV con o sin síntomas leves de punta morada, fueron positivas aproximadamente en 20 %. La enfermedad punta morada de la papa (*Solanum tuberosum* L.) se encuentra distribuida en Canadá, Estados Unidos de América, México, Colombia, Guatemala y Perú (Calderoni, 1978). En 1954 se reporta en Canadá en la Isla Príncipe Eduardo (Robinson y Campbell, 1958), mientras que en nuestro país se le conoce desde los años 60's (Rodríguez, *et al.*, 1995). La enfermedad ha sido considerada como la segunda en importancia después del tizón tardío de la papa. En México la enfermedad se incrementó del 30 % en 1993 al 90 % de tubérculos dañados en 1995 (García, 1996). La punta morada de la papa está asociada a fitoplasmas (Almeida-León *et al.*, 1999), similares a los clasificados como 16SrI y 16SrII (Lee, 1998). Los síntomas inician con el cambio de coloración del verde al amarillo violáceo, en particular en los bordes de las hojas, a la par que los folíolos inmediatamente inferiores y más tarde los superiores se enrollan hacia arriba; el color púrpura es más intenso en aquellos cultivares que forman antocianinas (Calderoni, 1978), el tallo desarrolla necrosis cortical, deshilachamiento del tejido y decoloración vascular (Hooker, 1980), a medida que avanza la infección hay brotación anormal de yemas axilares, que se hinchan y forman tubérculos aéreos, en los tubérculos hay una coloración castaño claro en los tejidos vasculares, ablandamiento de todo el tubérculo y deformaciones (Calderoni, 1978). Debido a la similitud que presentan la punta morada y el virus del enrollamiento de la hoja se planteo como objetivo del trabajo mediante la técnica de DAS-ELISA detectar la presencia del virus del enrollamiento de la hoja en el desarrollo del síndrome de la punta morada en el ciclo del cultivo de papa.

MATERIALES Y METODOS.

Selección de localidades El presente experimento se realizó durante el ciclo primavera-verano del 2004 en las localidades La Concha, y en el Rancho San José de Contreras del municipio de Galena, Nuevo León, localizado a una latitud norte de 25° 3', una longitud oeste de 100° 37' y una altura de 1854 msnm. Se utilizó material vegetativo de papa de las variedades Gigant y Adora para evaluar la incidencia y severidad de punta morada, y la posterior detección del PLRV en laboratorio. Se realizaron cinco muestreos considerando las etapas fenológicas de surco verde, surco cerrado, floración, madurez y cosecha. En cada una de las localidades se evaluaron tres lotes quedando distribuidos para La Concha dos de variedad Gigant (lotes 1 y 3) y uno de Adora (lote 2); mientras que para el rancho San José de Contreras; se evaluaron dos de Adora (lotes 4 y 6) y un lote de Gigant (lote 5). En cada uno de los lotes se seleccionaron cinco puntos de muestreo examinando al azar 200 m lineales por punto para tomar 30 folíolos de acuerdo a lo indicado en la Norma Oficial Mexicana (NOM-041-FITO-2002); el material vegetativo obtenido de cada sitio se colocó en bolsas de papel encerado debidamente etiquetados, y colocados en una hielera para su conservación en el traslado al laboratorio; teniendo en cada evaluación cinco muestras por lote, lo que dio al final del ciclo 25 muestras por lote y un total de 150 muestras para analizar. Al realizar el muestreo se tomó la lectura de incidencia de plantas con síntomas de punta morada considerando como 100 % de la muestra 90 plantas observadas por lote (Guigon, 1994); además se evaluó la severidad de la enfermedad para lo cual se consideraron los síntomas descritos por Calderoni (1978), y se diseñó una escala donde: 0= Ausencia de la enfermedad, 1= Plantas con

tonalidades amarillas, 2= Plantas con tonalidades moradas, 3= Plantas con detención del crecimiento y brotación anormal de yemas axilares, 4= Plantas con engrosamiento de nudos y pequeños tubérculos aéreos, 5= Plantas con necrosis vascular en los tallos y tubérculos, 6= Plantas con apariencia de marchitez y tonalidades amarillentas a morado y muerte prematura.

Identificación del virus por DAS-ELISA. Para detectar la presencia de PLRV mediante la técnica de DAS-ELISA (sándwich doble-anticuerpo) en las muestras obtenidas con síntomas de punta morada, se tomó un gramo de hoja por cada uno de los puntos muestreados de los diferentes lotes. Se realizó la sensibilización de la placa paso que permite a los anticuerpos específicos para el virus sometido a prueba adherirse a la superficie de cada pozo de la placa de microtitulación, después se lavó el exceso de gammaglobulina no adsorbida y se adicionó la muestra quedando las partículas virales adheridas a los anticuerpos, posteriormente se agregó la enzima conjugada que se adherió a los anticuerpos; se añadió el sustrato enzimático a la placa, al final la reacción se cuantificó en el espectrofotómetro (BIO-RAD modelo 550) por lectura a 405 nm (Cruz, 1997). Se utilizaron anticuerpos (Agdia), a una concentración de 0.2 mg/ml diluido 1:200; y cada muestra se repitió por tres ocasiones.

Interpretación de resultados Para cuantificar la información y explicar el progreso de la enfermedad se utilizó el modelo epidemiológico logístico el cual se usa principalmente para epidemias que generan su propio inóculo durante el período de medición de la enfermedad. Este modelo tiene como supuesto biológico que la tasa

absoluta de intensidad de enfermedad ($\frac{dy}{dt}$) en cualquier punto en el tiempo (t) es una constante proporción de la cantidad de enfermedad (y) y del tejido enfermo o plantas aparentemente sanas ($1-y$) existente en ese tiempo (t). Y su representación es la siguiente: $\frac{dy}{dt}=r_L y(1-y)$, donde: (r_L) es el parámetro de tasa específico al modelo logístico o tasa de infección aparente (Van der Plank, 1963).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al final del ciclo del cultivo la incidencia de punta morada en los seis lotes fue muy alta, alcanzando hasta el 100 % de las plantas con síntomas de la enfermedad; a excepción del lote 2 del ejido la Concha en el cual el máximo alcanzado fue del 90% provocando pérdidas importantes por la reducción del rendimiento. En este sentido Flores *et al.* (2004) indican que en el Sur de Coahuila y Nuevo León, los rendimientos en el cultivo de papa se redujeron hasta en un 90 % perdiéndose el valor comercial debido al manchado interno de los tubérculos. De acuerdo al modelo logístico empleado el comportamiento de la punta morada y la presencia del PLRV se dio de una manera progresiva en función del tiempo (Tabla 1) observándose una R^2 de 0.69 a 0.74 lo que muestra una confiabilidad en los resultados de la incidencia en donde el tiempo influye de una manera significativa sobre el progreso de la curva de la enfermedad.

Tabla 1. Análisis logístico de las epidemias de punta morada y PLRV

LOTES	MODELO $E(y)=b_0 + b_1t$	R^2 , significancia	Significancia b_0 y b_1		Error estándar de b_1
LOTE1	$E(y)=(-9.829)+(0.142)t$	0.7317	0.0014	0.0016	0.03042
LOTE2	$E(y)=(-8.963)+(0.114)t$	0.6946	0.0012	0.0027	0.02691
LOTE3	$E(y)=(-10.30)+(0.146)t$	0.7802	0.0006	0.0007	0.02749
LOTE4	$E(y)=(-9.912)+(0.134)t$	0.7036	0.0014	0.0024	0.03073
LOTE5	$E(y)=(-11.80)+(0.159)t$	0.7303	0.0009	0.0016	0.03417
LOTE6	$E(y)=(-10.11)+(0.140)t$	0.7448	0.0009	0.0013	0.02900

En el lote 1 se manifestó un efecto significativo ($p = 0.0016$) en donde el valor de la incidencia final del cultivo llegó a ser del 100 % en la etapa de madurez de la planta; en este mismo estado fenológico el lote 2 llegó a la máxima incidencia alcanzada del 90 % con una $p = 0.0027$, el resto de los lotes alcanzaron el 100 % de la incidencia antes de llegar a cosecha, presentando el lote 3 una $p = 0.0007$ en el lote 4 una $p = 0.0024$ y para el 5 y el 6 el análisis nos mostró una $p = 0.0016$ y $p = 0.0013$ respectivamente (Figura 1) Los resultados obtenidos en el lote 2 con papa de la variedad Adora muestran una incidencia menor a los demás lotes, sin embargo el grado de severidad alcanzado a la madurez fue del nivel cinco con necrosis vascular en tallos y tubérculos, con un daño severo al cultivo; resultados similares se presentaron en los otros lotes, incluyendo aquellos sembrados con papa de la variedad Gigant que es señalada por Cázarez-Méndez *et al.* (2003) como una variedad tolerante a punta morada al no presentar manchado en los tubérculos. Los resultados obtenidos de incidencia y severidad de punta morada indican que si hay un nivel de daño alto en la planta para los lotes muestreados.

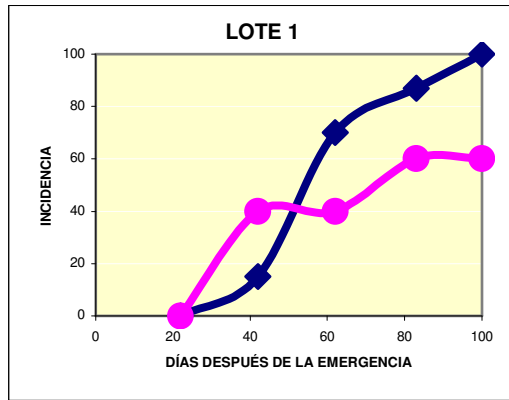


Figura 1.1 ● Incidencia PLRV en La Concha 20 ha Gigant
■ Incidencia Punta morada La Concha 20 ha Gigant

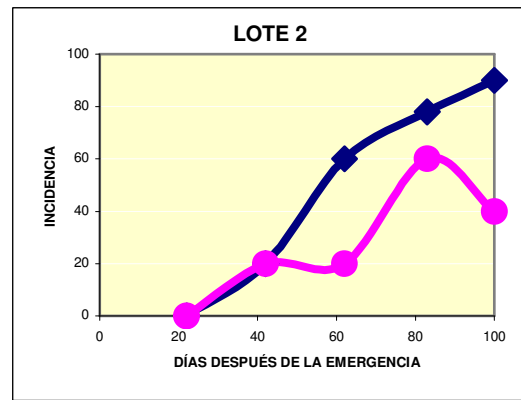


Figura 1.2 ● Incidencia PLRV en La Concha 10 ha Adora
■ Incidencia Punta morada La Concha 10 ha Adora

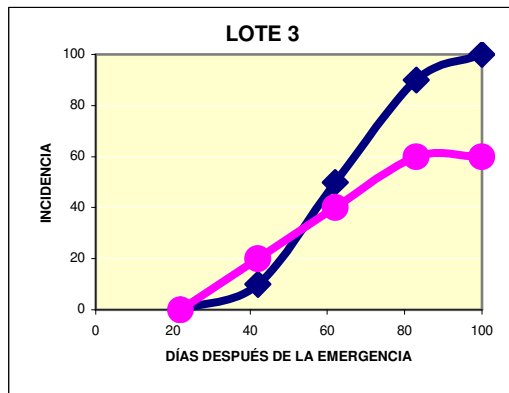


Figura 1.3 ● Incidencia PLRV en La Concha 10 ha Gigant
■ Incidencia Punta morada La Concha 10 ha Gigant

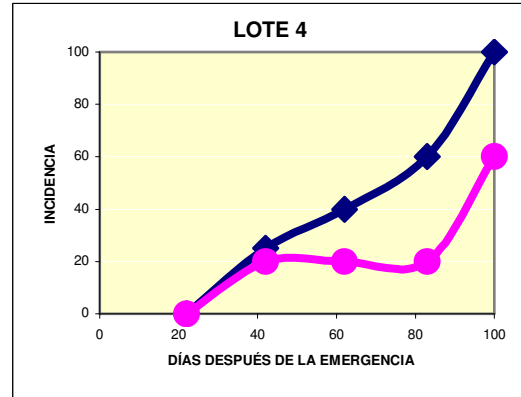


Figura 1.4 ● Incidencia PLRV en San José de Contreras var. Adora
■ Incidencia Punta morada en San José de Contreras var. Adora

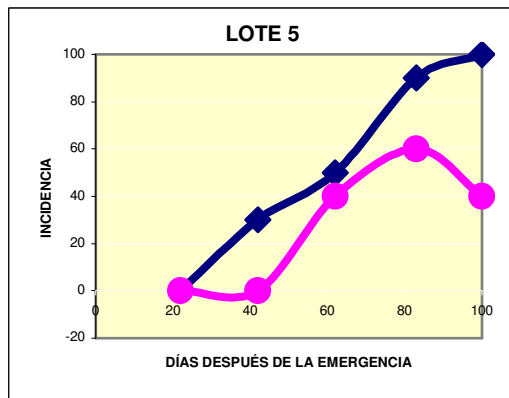


Figura 1.5 ● Incidencia PLRV San José de Contreras var. Gigant
■ Incidencia Punta morada en San José de Contreras var. Gigant

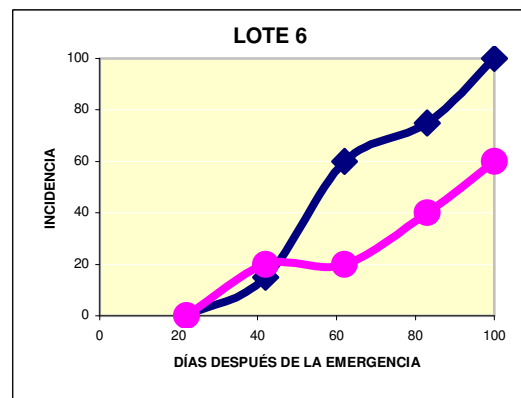


Figura 1.4 ● Incidencia PLRV en San José de Contreras var. Adora
■ Incidencia Punta morada en San José de Contreras var. Adora

Figura 1 Curva del comportamiento de la punta morada y del virus del enrollamiento de la hoja (PLRV) en función del tiempo.

La severidad de la enfermedad a los 100 días después de la siembra en el lote uno alcanzó el nivel cuatro presentando plantas con engrosamiento de nudos y pequeños tubérculos aéreos, el porcentaje de muestras positivas para PLRV fue de 40 %, En los otros cinco lotes la severidad en el cultivo se registró en el grado cinco, presentándose plantas con necrosis vascular en los tallos y tubérculos; en este caso la presencia de PLRV siendo el lote cuatro el que presentó menor incidencia con 24 % de virus siendo estos resultados congruentes con los obtenidos por Jensen (2004), quien señala que plantas con síntomas leves de punta morada normalmente son positivas a PLRV y que a mayor severidad en los síntomas de punta morada sólo se reduce la incidencia del virus (Figura 2). Para determinar si los tubérculos presentaban necrosis se realizaron cortes a la mitad de los tubérculos en cada lote y en aquellos en los que su grado de severidad fue cinco, el daño que se presentó no fue muy fuerte en especial en la variedad Gigant de acuerdo con Cázares-Méndez *et al.* (2003), el pardeamiento de los tubérculos de esta variedad es de ligero a moderado.

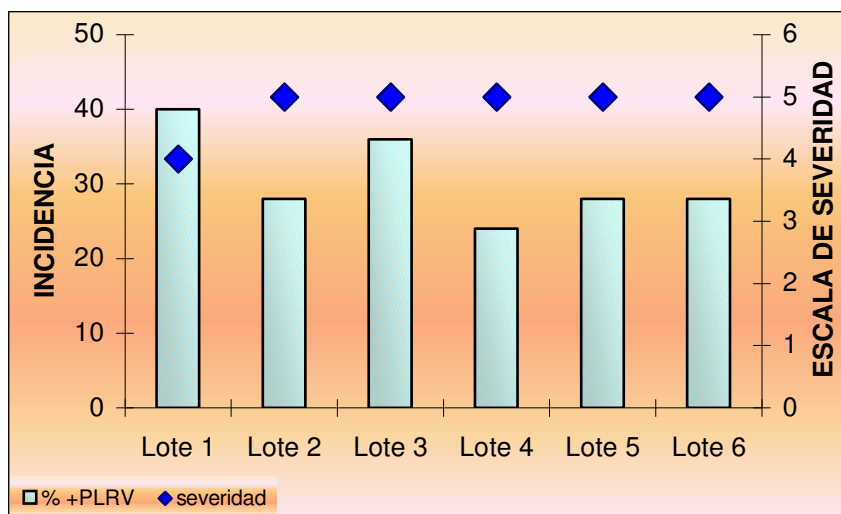


Figura 2. Severidad de punta morada en relación a la incidencia de PLRV al final del ciclo del cultivo tomando las 25 muestras por lote.

De 150 muestras analizadas que se procesaron con síntomas de punta morada 30.6 % fueron positivas PLRV, (Tabla 2); Los resultados indican que en la variedad Gigant se presentó una incidencia del 56.5 % mientras que en la incidencia sólo alcanzó el 43.5 % en la variedad Adora. Tomando en cuenta los resultados de PLRV el porcentaje de positivos fue menor que la incidencia de punta morada. Aquellos que tuvieron una densidad óptica mayor a 0.150 fueron considerados positivos por lo que la presencia del virus se presentó durante el desarrollo de la punta morada; no obstante en algunos lotes al final del ciclo la detección del virus bajó en las muestras, lo que pudo ser efecto del muestreo, o bien como mencionan Flanders *et al.* (1990), que muchos cultivares de papa a la madurez de la planta muestran una resistencia a PLRV.

Tabla 2 Muestras analizadas por DAS-ELISA para el virus del enrollamiento de la hoja

	M1*	M2	M3	M4	M5		M1*	M2	M3	M4	M5
**LOTE1P1	-	+	-	+	+	LOTE4P1	-	+	-	-	+
LOTE1P2	-	-	+	+	+	LOTE4P2	-	-	+	+	+
LOTE1P3	-	+	-	-	-	LOTE4P3	-	-	-	-	-
LOTE1P4	-	-	+	+	+	LOTE4P4	-	-	-	-	-
LOTE1P5	-	-	-	-	-	LOTE4P5	-	-	-	-	+
LOTE2P1	-	-	-	-	-	LOTE5P1	-	-	-	-	+
LOTE2P2	-	-	-	+	-	LOTE5P2	-	-	+	+	+
LOTE2P3	-	+	+	+	+	LOTE5P3	-	-	-	+	-
LOTE2P4	-	-	+	+	+	LOTE5P4	-	-	+	+	-
LOTE2P5	-	-	-	-	+	LOTE5P5	-	-	-	-	-
LOTE3P1	-	-	-	-	-	LOTE6P1	-	+	-	-	-
LOTE3P2	-	+	-	+	+	LOTE6P2	-	-	-	+	+
LOTE3P3	-	-	+	+	+	LOTE6P3	-	-	-	-	-
LOTE3P4	-	-	-	-	-	LOTE6P4	-	-	+	+	+
LOTE3P5	-	-	-	+	-	LOTE6P5	-	-	-	-	-

*M1 Representan cada uno de los muestreos analizados por DAS-ELISA. **LOTE 1P1 La Concha, variedad Gigant 20 ha y sus puntos muestreados. LOTE 2 La Concha, variedad Gigant 10 ha. LOTE 3 La Concha, variedad Adora 10 ha. LOTE 4 San José de Contreras, variedad Adora. LOTE 5 San José de Contreras, variedad Gigant. LOTE 6 San José de Contreras, variedad Adora.

LITERATURA CITADA.

Agrios, N.G. 1988. Plant Pathology. Third edition. Academic Press. London pp 803

Almeyda-León, I. H., Rubio-Cobarrubias, O. A., Cadena-Hinojosa, M. A., Díaz-Valasis, M., Zavala-Quintana, T., Rocha-Peña, M. A., y Díaz-Trujillo, A. 1999. Implementación de Técnicas para la detección del agente causal de la Punta Morada de la Papa en plantas e insectos vectores. Informe anual del proyecto de investigación. Laboratorio de Biotecnología Monterrey. CIR Noreste INIFAP. 20p.

Calderoni, A. V. 1978. Enfermedades de papa y su control. Editorial Hemisferio Sur S.A. Primera Edición, Buenos Aires Argentina. Pp 72-73

Cázarez-Méndez, I. G., de la Jara-Alcocer, F., Rodríguez-Dorantes, A. M., y Cadena Hinojosa, M. A. 2003. Comparación de patrones electroforéticos de proteínas e isoenzimas en tubérculos sanos y con síntomas de punta morada de siete variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.). Revista Mexicana de Fitopatología 21:1002-108.

Cruz F. M., Frías T. G. A. 1997. ELISA Guía ilustrada de la prueba de inmunoadsorción con enzimas para la detección de fitopatógenos. Subsecretaría de Agricultura y Ganadería. 22 p.

NOM-041-FITO-2002. Diario Oficial de la Federación. Marzo, 2003. Norma Oficial Mexicana, requisitos y especificaciones fitosanitarios para la producción de material propagativo asexual de papa.

Flores O. A., Alemán N. I. A., Notario Z. M. I. 2004. Alternativas para el manejo de la punta morada de la papa. Simposio Punta Morada de la papa. XXI Semana internacional del Parasitólogo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. pp 40-63

García, Q. J. R. 1996. Etiología y transmisión del obscurecimiento interno del tubérculo de papa (*Solanum tuberosum* L.) Para Industria. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. pp 29-34

Guigon L. C. 1994. Epidemiología de las enfermedades de la papa causadas por hongos fitopatógenos del suelo en el sur de Coahuila y Nuevo León. Tesis de Maestría de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista saltillo, Coahuila. pp 18-24

Hooker, W. J., 1980. Compendio de enfermedades de la papa. Centro Internacional de la Papa, Lima Perú. P 128

Jensen A., Hamm P., Thomas P., Crosslin J., Munyaneza J., Schrelber A., Pike K., 2004. Purple top, BLTVA, and Leafhoppers: An Update. Published by Washington State Potato Commission. IV (3): 2

Lee, I. M., Gunderson-Rindal, D. E., and Bertaccini, A. 1998. Phytoplasma: Ecology and genomic diversity. Symposium. New Perspectives on Phytopathogenic Mollicutes. *Phytopatology* 88:1350-1366

Marsh, T. L., Huffaker, R. G., Mittelhammer, R. C., Folwell R. J., Long, G. E., Horton D. R., and Toba, H. H. 1998. Potato Leafroll Virus Net Necrosis: Identifying Pest Magement Tradeoffs Among Inoculation Interval, Storage Length, and Tuber Weight. *Journal of Economical Entomology*. 91:923-932.

Martínez, S. J.P. 1999. La punta morada de la papa. Memorias del IX Congreso Nacional de Productores de Papa. León, Guanajuato, México. 16

Mihovilovich, C.E., 1996. Desarrollo e Identificación de clones parentales inmunes a los virus X e Y de la papa: Un éxito del mejoramiento. Centro Internacional de la Papa (Circular). 22 p.6.

Palmer, A., Jiménez, R., Montaña, J.J. (s.f.) Tutorial sobre el coeficiente de correlación lineal de Pearson. Facultad de Psicología. Universitat de les Illes Balears.

Parga T. V. M. 2004. Mejoramiento genético por resistencia a punta morada de la papa (*Solanum tuberosum* L.). Simposio Punta Morada de la papa. XXI Semana internacional del Parasitólogo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. pp 24-30

PROINPA. 1997. Como conocer y evitar la planta morada en el cultivo de la papa. Programa de Investigación de la Papa Instituto Boliviano de Tecnología Agropecuaria. Ficha técnica #9 Fitopatología. 5 p

Robinson, D. B. and Campbell J. E. 1958. Observations of purple to in potatoes in Prince Edward Island. *Plant Dis. Rptr.* 42: 337-338

Rodríguez, M.R.R., García Q., Cardenas, S.E. 1995. Etiología de la decoloración interna del tubérculo de papa. Memorias del VI Congreso Nacional de Productores de Papa. Saltillo, Coahuila, México. P 20

Smith, I.M. 1992. Manual de enfermedades de las plantas. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid España. Pp 46-47

Van der Plank, J. E. 1963. Plant diseases: Epidemics and control. Academic ----prees, New York, 344 p.