

APLICACIÓN DE TERMOTERAPIA EN PAPA (*Solanum andigenum* spp.) PARA CONTROL DE LA ENFERMEDAD DE AMARILLAMIENTO DE VENAS

Carlos Betancourt García¹

Harold Jojoa²

Jairo Velazco²

RESUMEN

Para evaluar el efecto de la termoterapia sobre el virus de amarillamiento de venas en papa (PYVV) se examinaron muestras foliares de plantas sintomáticas de la variedad ICA Nariño, fueron examinadas por microscopía electrónica y mostraron partículas flexuosas similares a *Closterovirus*. De 700 tubérculos procedentes de estas plantas 480 se trataron a 38 °C durante 3, 4, 5, 6, 7 y 8 semanas (80 tubérculos por tratamiento). A tres semanas y 38°C se obtuvo un 100% de germinación de los tubérculos y más acelerada que el testigo.

Después de la cuarta semana y a la misma temperatura, hubo inhibición total de la brotación de yemas. Se sembraron 15 tubérculos tratados durante tres semanas en invernadero y 60 en campo con sus testigos correspondientes. Las evaluaciones por síntomas en el invernadero mostraron una incidencia del 100% en el testigo y 20 % en el tratamiento y 42% y 6% respectivamente en campo.

En diagnóstico mediante hibridación de ácidos nucleicos, realizado en el Centro Internacional de la Papa (CIP-Perú), únicamente los testigos resultaron positivos para presencia del virus. Sin embargo en observaciones al microscopio electrónico, tejidos sintomáticos procedentes de tratamientos y testigos, revelaron la presencia de partículas virales. En cuanto a producción el tratamiento mostró un 40% más de tubérculos que el testigo.

Palabras claves: Termoterapia, Virus, Incidencia.

1. Profesor Asistente. Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia. E-mail: cbet70@yahoo.com

2. Estudiante de Ingeniería Agronómica. Auxillar de Investigación (VIPRI). Universidad de Nariño, Pasto, Colombia.

SUMMARY

In order to evaluate the effect of heat therapy on the potato yellow vein virus (PYVV), symptomatic foliar tissue of potatoes of ICA Nariño variety were examined under a transmission electron microscopy that revealed flexuous particles similar to *Closterovirus*. 700 tubers taken from these plants 480 were treated at 38°C during 3, 4, 5, 6, 7 and 8 weeks (80 tubers per treatment). After three weeks and at 38°C 100% germination of the tubers was obtained in less time than the check specimen. After the fourth week and at the same temperature, there was a total inhibition of the outbreak of young shoots. Fifteen tubers treated for three weeks in a greenhouse and 60 in open field with their corresponding control subjects were sown. Tests for symptoms from the greenhouse samples showed a 100% incidence in the control, 20% in the treated and 42% and 6% respectively for the open field.

In diagnosis through the hybridization of nucleic acids carried out in the International Potato Center in Peru (CIP), only the control was positive for the virus. However, examined under the microscopy there was evidence in the tissue samples of the treated and control of the presence of viral particles. Respect to production 40% more tubers than the check.

Keys words: Heat therapy, virus, incidence

INTRODUCCION

Los primeros brotes de la enfermedad de amarillamiento de venas (PYVD) se observaron en Antioquia, Colombia hacia el año de 1943 (Alba, 1950), y desde entonces la incidencia de la enfermedad rápidamente alcanzó niveles alarmantes y una reducción considerable de la producción. Varios investigadores han determinado el efecto del virus de amarillamiento de venas (PYVV) sobre la producción (Saldarriaga *et al.*, 1988; Vega, 1970; Pérez y Estrada, 1987). Todos los estudios registran reducciones de la producción de alrededor del 50% en cultivos con 100% de infección. Las plantas afectadas generalmente producen menos tubérculos que las sanas (Salazar *et al.*, 2000).

La alta incidencia de la enfermedad en Colombia se debe en parte al incremento de las poblaciones de *Trialeurodes vaporariorum*, la mosca blanca vector del virus (Vega 1970; Buriticá, 1971; Tamayo y Navarro, 1984).

El agente causante de la enfermedad es un virus del género Crinivirus de la familia Closteroviridae, el cual tiene forma alargada y flexuosa y aun no se han producido antisueros para pruebas serológicas de diagnóstico (Salazar *et al.*, 2000).

En Nariño la escasa producción de semilla certificada, que no alcanza a llegar al 1% de los papicultores ha dificultado el manejo de la enfermedad.

La termoterapia es utilizada mundialmente para eliminación de virus (Nyland y Goheen, 1969). En esta técnica se someten órganos como tubérculos a temperaturas lo suficientemente altas para inactivar virus (Quak, 1972). Diferentes trabajos de termoterapia en papa han demostrado resultados satisfactorios (Betancourt y Martínez, 1999; Quak, 1972).

Con base en los antecedentes expuestos anteriormente, se planteó el presente estudio con el objetivo de determinar el efecto de diferentes tratamientos térmicos en tubérculos de papa, sobre la incidencia del virus de amarillamiento de venas en este cultivo.

METODOLOGIA

Localización. El trabajo se desarrolló en la Universidad de Nariño en condiciones de invernadero a una temperatura promedio de 18 °C y campo en la granja experimental de Botana a una altitud de 2820 msnm, 13 °C y 85 % HR. Es importante anotar que en la estación experimental no hay presencia de mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* que es el vector del virus en estudio.

Material vegetal. Se trabajó con la variedad ICA Nariño, y se usaron tubérculos de 80 gramos, procedentes de plantas afectadas con virus.

Diagnóstico inicial. Tres muestras foliares procedentes de plantas sintomáticas en campo, fueron enviadas al Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), para ser examinadas por microscopio electrónico de transmisión por la técnica de tinción negativa y determinar la presencia de partículas virales.

Tratamientos. En una estufa con temperatura regulada se sometieron a 38 °C durante 3, 4, 5, 6, 7 y 8 semanas los tubérculos procedentes de plantas

infectadas. Se trataron en total 480 tubérculos. Además, un número de 220 tubérculos se dejaron como testigos sin tratamiento.

Diseño experimental. En campo se trabajó con un diseño de bloques completos al azar con seis tratamientos y tres repeticiones. Se sembraron 20 tubérculos por cada repetición para un total de 60 tubérculos por tratamiento e igual número de testigos. En invernadero se sembraron 5 tubérculos por repetición para un total de 15 por tratamiento e igual número de testigos.

Variables evaluadas. Las variables evaluadas fueron el porcentaje de brotación, la incidencia de la enfermedad y la producción.

Diagnóstico después del tratamiento. Las plantas procedentes de tubérculos tratados como de los testigos, sembradas en campo e invernadero, se evaluaron para determinar la incidencia de la enfermedad a uno, dos y tres meses después de la emergencia. Esta variable se evaluó por medio de síntomas, microscopía electrónica en (CIAT) y por hibridación de ácidos nucleicos en el Centro Internacional de la Papa (CIP) en Perú, siendo esta técnica la única 100% segura en el diagnóstico de la enfermedad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diagnóstico inicial. Todas las muestras foliares sintomáticas examinadas por microscopio electrónico de transmisión, revelaron la presencia de partículas virales flexuosas de aproximadamente 900 nm, similares a *Closterovirus*.

Porcentaje de brotación. La brotación se inhibió totalmente en tubérculos tratados a 38 °C durante 4 semanas y en adelante, pero fue del 100% en los tubérculos tratados a la misma temperatura durante tres semanas, mostrando una diferencia interesante en cuanto al tiempo de brotación comparada con la del testigo que también fue del 100% (Tabla 1). Es posible que los períodos prolongados de tratamiento hayan causado daños a los tejidos meristemáticos que dan origen a las yemas, por ser las partes más sensibles del tubérculo, a más tiempo de exposición, hay mayor deshidratación de las células, presentándose una plasmolisis y posterior muerte de tejidos. De otro lado, el tratamiento durante tres semanas indujo una brotación más acelerada, posiblemente debida a una mayor actividad enzimática celular del tubérculo estimulado por la temperatura.

Resultados similares en brotación encontraron Betancourt y Martínez (1999). Los resultados se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Evaluación de porcentaje de brotación.

PORCENTAJE DE BROTACIÓN DE TUBERCULOS TRATADOS Y TESTIGOS							
TRATAMIENTO	TIEMPO DE TRATAMIENTO EN SEMANAS						TESTIGO
	3	4	5	6	7	8	
%	100	0	0	0	0	0	100

Incidencia de la enfermedad de amarillamiento de venas evaluada por síntomas en plantas en invernadero. Las tres evaluaciones realizadas a uno, dos y tres meses después de la emergencia, mostraron siempre porcentajes de aparente infección superiores en las plantas testigos, lo cual indica el efecto favorable del tratamiento a 38°C durante 3 semanas en tubérculos infectados en la eliminación o inactivación del virus.

Es importante anotar que el diagnóstico basado en síntomas no es totalmente seguro, pero sirve como una buena aproximación al estado sanitario real de las plantas. Además las plantas no tratadas alcanzaron un 100% de afección, mostrando síntomas típicos de la enfermedad. Sin embargo, las plantas procedentes de tubérculos tratados alcanzaron una incidencia del 20%, pero sus síntomas fueron muy incipientes y nunca progresaron; sin embargo se consideraron como enfermas. Los resultados se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Porcentaje de incidencia de amarillamiento de venas evaluada por síntomas en plantas en invernadero.

PORCENTAJE DE INCIDENCIA DE AMARILLAMIENTO DE VENAS			
TRATAMIENTO	UN MES	DOS MESES	TRES MESES
30°C TRES SEMANAS	0	15	20
TESTIGO	15	40	100

incidencia de la enfermedad de amarillamiento de venas evaluada por síntomas en plantas en campo. Al igual que la evaluación en invernadero, la incidencia de la enfermedad en campo fue siempre superior en plantas procedentes de tubérculos no tratados, cabe anotar que las plantas tratadas tuvieron una incidencia muy baja a los tres meses de evaluación (6%), sus síntomas fueron muy leves y no progresaron a estados avanzados de enfermedad.

En los testigos las plantas se mostraron totalmente sintomáticas y con un porcentaje alto de incidencia (42%). Los resultados muestran que en las plantas tratadas hubo una inactivación del virus o una reducción considerable en su concentración, lo cual conlleva a un mejor estado sanitario del cultivo. Sin embargo, la inactivación del virus en este caso puede ser una condición temporal o total, de tal manera que debe evaluarse una nueva generación en campo para comprobarlo. De otro lado, la aparición de los síntomas en el testigo se dio casi en forma simultánea con la emergencia, condición que permite al virus causar mayores daños durante el ciclo de cultivo.

Tabla 3. Porcentaje de incidencia de amarillamiento de venas evaluada por síntomas en plantas en campo.

PORCENTAJE DE INCIDENCIA DE AMARILLAMIENTO DE VENAS			
TRATAMIENTO	UN MES	DOS MESES	TRES MESES
38°C TRES SEMANAS	0	5	6
TESTIGO	6	25	42

Evaluación de la enfermedad por microscopía electrónica. Al examinar bajo microscopio electrónico de transmisión ocho muestras foliares tomadas de cuatro plantas procedentes de tubérculos no tratados y cuatro de tubérculos tratados, todas mostraron presencia de partículas virales flexuosas de aproximadamente 900 nm iguales a las encontradas en el diagnóstico inicial. La presencia de partículas virales en plantas tratadas indica que efectivamente puede haber una inactivación de las mismas y de ahí que no se hayan registrado síntomas en campo.

Diagnóstico por hibridación de ácidos nucleicos. De 150 muestras foliares se impregnó savia en una membrana de nitrocelulosa y fueron enviadas al Centro Internacional de la Papa (CIP) en Perú, 100 correspondientes al testigo y 50 al tratamiento a 38 °C durante 3 semanas, los exámenes de hibridación de ácidos nucleicos mostraron que 90 muestras del testigo fueron positivas al virus de amarillamiento de venas y de las 50 muestras correspondientes al tratamiento ninguna resultó positiva. Los resultados definitivamente confirman que la termoterapia tiene un efecto de eliminación del virus, disminución en su concentración o inactivación del mismo.

Evaluación de la producción. En la época de la cosecha se pesó la producción y se estimó en toneladas por hectárea, encontrando que las plantas procedentes de tubérculos tratados produjeron un 40% más, alcanzando 40 tn/ha comparado con 24 tn del testigo. La producción esta acorde con el estado sanitario de las plantas y coincide con resultados obtenidos por diferentes investigadores, que afirman que la enfermedad de amarillamiento de venas puede generar mermas en producción de hasta un 50% (Saldarriaga et al., 1988; Vega, 1970; Pérez y Estrada, 1987).

CONCLUSIONES

La temperatura tuvo un efecto negativo sobre la brotación de los tubérculos tratados por más de tres semanas, debido posiblemente a una interferencia con procesos metabólicos o fisiológicos del tubérculo o daño físico por pérdida excesiva de agua y muerte celular.

El tratamiento a 38°C durante 3 semanas redujo considerablemente la incidencia de la enfermedad, causando la inactivación del virus y se puede aplicar como una alternativa de manejo de la enfermedad.

Las plantas procedentes de tubérculos no tratados produjeron un 40% menos que las tratadas, lo cual indica que hay una alteración fisiológica de la plantas enfermas por acción del virus y hay necesidad de manejar adecuadamente el problema.

La termoterapia puede ser una técnica útil en programas de producción de semilla libre de virus.

BIBLIOGRAFÍA

- ALBA, V. Viropatógenos. Conferencia Latinoamericana de Especialistas en Papa (Bogotá, Colombia), pp 52- 58. 1950.
- BETANCOURT, V. y MARTÍNEZ, L. Termoterapia en la producción de semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.) de la variedad Diacol Capiro. Congreso Nacional de Fitopatología. Manizales, Colombia. 1999. p 87.
- BURITICA, P. Estudios de transmisión del amarillamiento de las venas de la papa. Informe anual. Programa de Fitopatología ICA (Bogotá, Colombia), pp. 111-113. 1971.
- NYLAND, G. And GOHEEN, A. Heat therapy of viruses of perennial plants. Annual Review Phytopathology, 7, 331-354. 1969.
- PEREZ, O. y ESTRADA, N. Comportamiento de varios clones de papa al "Amarillamiento de venas". XIII reunión ALAP. Panamá. Marzo, 1987. pp.9-13.
- QUAK, F. THERAPY. In: Var der Want, Viruses of potatoes seed potato production. Editado por J.A. de Bokx. pp. 158-166. 1972.
- SALAZAR, L; MULLER, G; QUERCI, M; ZAPATA, L. and OWENS, R. Potato yellow vein virus: Its host range, distribution in South America and identification as a crinivirus transmitted by *Trialeurodes vaporariorum*. Annual Applied Biology. 2000. 137: 7-19.
- SALDARRIAGA, A; ALVAREZ, A. y JARAMILLO, J. Efecto del amarillamiento de venas transmitido por *Trialeurodes vaporariorum* en papa. Revista Colombiana de Entomología. 14: 3-8. 1988.
- TAMAYO, P y NAVARRO, R. Aumenta la incidencia del virus de amarillamiento de venas de la papa en Antioquia. ASCOLFI informa (Bogotá) 10: 40-42. 1984.
- VEGA, J. Transmisión, purificación y caracterización del agente causal del "amarillamiento de venas" en papa. Tesis M.S.c. Universidad Nacional e Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). Bogotá, Colombia. 47p.