

INCIDENCIA VISUAL DE SÍNTOMAS ASOCIADOS A ENFERMEDADES VIRALES EN CULTIVOS DE PAPA DE COLOMBIA

VISUAL INCIDENCE OF SYMPTOMS ASSOCIATED TO VIRAL DISEASES IN POTATO CROPS OF COLOMBIA

INCIDÊNCIA VISUAL DE SINTOMAS ASOCIADOS A DOENÇAS VIRAIS NA CULTURA DA BATATA DA COLÔMBIA

JOSÉ FERNANDO GIL R.¹, JOSÉ MIGUEL COTES T.², MAURICIO ALEJANDRO MARÍN M.³

RESUMEN

Las enfermedades virales son uno de los problemas más limitantes del cultivo de papa. En los últimos años el amarillamiento de venas (AV) causado por PYVV, se ha presentado como una de las enfermedades más incidentes en Colombia. En este trabajo se evaluaron los síntomas comúnmente asociados a enfermedades virales en cultivos de papa de cuatro departamentos de Colombia, con énfasis en la enfermedad del amarillamiento de venas. Mediante pruebas de ELISA se determinó la posible relación de los síntomas AV, mosaico rugoso (MR), enrollamiento foliar (EF) y enanismo (EN) con la presencia de Potyvirus, PLRV, PVS, PVX; y mediante RT-PCR para PYVV. Los resultados indicaron que MR fue el síntoma más incidente en los cultivos (16%), seguido por EF (10%), AV (7%) y EN (2%). Los cultivos del Oriente Antioqueño e Ipiales (Nariño) fueron las regiones con mayores niveles de AV (>20%). No se encontró una relación significativa para las combinaciones virus/síntomas; por el contrario, se detectaron potyvirus y PVS en 68% y 30% de las muestras, respectivamente. El PYVV se detectó en todas las muestras

Recibido para evaluación: 20/06/2012. **Aprobado para publicación:** 18/07/2013

- 1 Ingeniero Agropecuario, MSc. Investigador, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín
- 2 Ingeniero Agrónomo, PhD. Profesor Asociado, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín
- 3 Ingeniero Agrónomo, PhD. Profesor Asociado, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín.

Correspondencia: mamarinm@unal.edu.co

con AV, aunque más del 15% de dichas muestras también presentaron al menos uno de los otros virus evaluados.

ABSTRACT

Viral diseases are one of the most limiting factors in potato production. Recently, vein yellowing (VY) caused by PVV has become one of the diseases with the highest incidence in potato crops in Colombia. In this work, symptoms commonly associated with viral infection were evaluated in potato crops from four provinces of Colombia, with emphasis in the vein yellowing disease. A correlation between VY, rugose mosaic (RM), leaf roll (LR) and dwarf (D) symptoms and the presence of potyvirus, PLRV, PVS and PVX was determined by ELISA. The presence of PVV was determined by RT-PCR. Incidence for each symptom was: RM (16%), LR (10%), VY (7%) and D (2%). The highest levels of VY (>20%) were observed in Eastern Antioquia and Ipiales (Nariño). There was not significant correlation between a symptom and a specific virus, since Potyvirus and PVS were found in 68% and 30% of samples, respectively. PVV was detected in all samples with VY. However, at least another virus was found in 15% of these samples.

RESUMO

As doenças causadas por vírus são uns dos problemas de fitosanidade mais importantes da cultura da batata. Nos últimos anos o sintoma de amarelamento das nervaduras (AV) associado ao vírus PVV, tem-se apresentado como umas das doenças com maior incidência em Colombia. Nesta pesquisa avaliaram-se os sintomas comumente associados a doenças causadas por vírus em cultura da quatro estados da Colômbia. Usando testes de ELISA determinou-se a possível relação entre o sintoma AV, mosaico com rugosidade (MR), deformação foliar (EF) e porte baixo (EN) com a presença de Potyvirus, PLRV, PVS, PVX, e usando RT-PCR para PVV. Os resultados mostram que MR foi o sintoma com maior incidência (16%), e após deste EF (10%), AV (7%) y EN (2%). Na região do leste do estado de Antioquia e Ipiales no estado de Nariño, apresentaram-se os maiores valores de AV (>20%). Não se encontro uma relação significativa para as combinações vírus/sintomas, mas pelo contrario, detectaram-se potyvirus e PVS no 68% e 30% de todas as amostras, respectivamente. No caso de PVV encontraram-se que o vírus está presente em todas a amostras com AV, embora mas do 15% das amostras associadas com este sintoma apresentaram pelo menos um dos outros vírus avaliados.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de la papa representa uno de los renglones agrícolas de mayor importancia en Colombia, alcanzando cerca de 130.525 ha [1]. Diferentes trabajos indican que los problemas virales reducen los rendimientos y la calidad del tubérculo semilla en cultivos de papa de todo el mundo, razón por la cual su manejo debe hacer parte fundamental de los programas de manejo fitosanitario en este cultivo [2, 3].

PALABRAS CLAVE:

ELISA, Incidencia de virus, PVV, RT-PCR, *Solanum tuberosum*

KEYWORDS:

ELISA, PVV, RT-PCR, *Solanum tuberosum*, Virus incidence

PALAVRAS-CHAVE:

ELISA, Incidência de vírus, PVV, RT-PCR, *Solanum tuberosum*

En el mundo los principales virus que afectan la papa son: *Potato leafroll virus* (PLRV), *Potato virus Y* (PVY), *Potato virus A* (PVA) y *Potato virus X* (PVX) [2, 4]. En Colombia, también se destacan el *Potato virus S* (PVS) y *Potato yellow vein virus* (PYVV) [5]. El efecto del PLRV en variedades susceptibles puede llegar a ocasionar pérdidas de hasta el 90%, mientras que PVY y PYVV, pueden reducir los rendimientos hasta en 80% y 50%, respectivamente [2, 5, 6]. Diferentes trabajos han demostrado que el efecto sobre la producción en papa es especialmente crítico cuando los virus se presentan en conjunto; así por ejemplo, la infección simultánea de PVS y PVX pueden llegar a destruir completamente el cultivo [2, 7]. Así mismo, la utilización sucesiva de tubérculo semilla por parte de los agricultores conduce al aumento de los niveles de incidencia y severidad de los virus [3, 8].

La enfermedad del amarillamiento de las venas (AV) causada por PYVV se reportó por primera vez en Antioquia en 1943 [6, 9] y actualmente se registra en todo el país, además de Ecuador, Perú y Venezuela [9]. El virus induce síntomas de amarillamientos de venas secundarias acompañados de un color amarillo intenso en la lámina foliar. Mediante infecciones dirigidas en diferentes solanáceas, se ha encontrado que además de papa, el PYVV puede infectar el tomate y algunas plantas arvenses como *Polygonum sp.*, *Tagetes sp.* y *Catharanthus roseus* [5, 6, 10]. Además de la dispersión del virus vía tubérculos, el PYVV es transmitido en forma natural de manera semi-persistente por moscas blancas de la especie *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) [5].

El PYVV es una especie del género *Crinivirus* (*Closteroviridae*) y se caracteriza por poseer un genoma tripartita, con caperuza en sus extremos 5' y una estructura de pseudo-nudo hacia el extremo 3' [11, 12]. Diversos trabajos basados en análisis de secuencias, SCCP (*single-strand conformation polymorphism*) y RTPCR-RFLP (*Reverse transcription polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism*) han determinado que el virus presenta bajos niveles variación genética [13, 14].

La sintomatología característica asociada a PYVV en los cultivos de papa de Colombia, conduce a que los agricultores frecuentemente sólo reconozcan este problema viral en sus cultivos y a que adicionalmente consideren que plantas con otros síntomas comúnmente asociados a enfermedades virales (SCAV), estén libres de PYVV. En esta investigación se eva-

luaron ambas situaciones a partir de observaciones visuales de síntomas y su correlación con pruebas de ELISA para PLRV, potyvirus, PVS y PVX y de RT-PCR para PYVV.

MÉTODO

Evaluación de síntomas

Se realizaron muestreos en ocho lotes de cultivos de papa en etapa previa o durante floración, de diferentes variedades ubicados en los departamentos de Antioquia, Cundinamarca, Boyacá y Nariño (Cuadro 1). En cada lote de cultivo (0,2 a 1 ha de extensión) se evaluaron SCAV a partir de un recorrido aleatorio, tomándose la quinta planta de cada surco y diez plantas por surco, hasta obtener 100 muestras.

Para el análisis de los datos se consideraron d departamentos ($j=1,2,\dots,d$); m_i zonas dentro de departamentos ($j=1,2,\dots,b$; donde $b=\sum m_i$), F_{ij} lotes dentro de zonas y departamentos ($k=1,2,\dots,c$; donde $c=\sum F_{ij}$), y n observaciones totales. Así para el vector \mathbf{y} de observaciones de presencia/ausencia del síntoma reportado, en la planta l del lote k dentro de la zona j del departamento d , se consideró el siguiente modelo lineal generalizado (Ec.1):

$$\text{logit}(E[\mathbf{y}]) = \mathbf{1}\mu + \mathbf{Z}_1\mathbf{u}_1 + \mathbf{Z}_2\mathbf{u}_2 + \mathbf{Z}_3\mathbf{u}_3 + \mathbf{e} \quad (\text{Ec.1})$$

donde, en su orden, $\mathbf{1}$ y μ son el vector de unos de tamaño n y la media general; \mathbf{Z}_1 y \mathbf{u}_1 son la matriz de incidencia $n \times a$ y el vector $a \times 1$ de efectos aleatorios de departamento, \mathbf{Z}_2 y \mathbf{u}_2 son la matriz de incidencia $n \times b$ y el vector $b \times 1$ de efectos aleatorios de zonas dentro de departamentos, \mathbf{Z}_3 y \mathbf{u}_3 son la matriz de incidencia $n \times c$ y el vector $c \times 1$ de efectos aleatorios de lotes dentro de zonas y departamentos; y \mathbf{e} es el vector de efectos residuales. En este estudio se supone que el vector \mathbf{y} sigue una distribución de Bernoulli, y que los efectos de departamentos, zonas dentro de departamentos, y lotes dentro de zonas y departamentos siguen una distribución normal con media cero y varianzas σ_{u1}^2 , σ_{u2}^2 y σ_{u3}^2 .

Para la predicción de la incidencia (\mathbf{I}) se utilizó el mejor predictor lineal insesgado (BLUP, por sus siglas en inglés) para el efecto respectivo. Así por ejemplo para predecir la incidencia del efecto de los departamentos se sigue la siguiente expresión (Ec.2):

$$\hat{\mathbf{I}} = \mathbf{1}\hat{\mu} + \mathbf{Z}_1\hat{\mathbf{u}}_1 \quad (\text{Ec.2})$$

Para el análisis estadístico se utilizó el procedimiento GLMIX del programa estadístico SAS versión 9.1.3.

Detección serológica de virus en muestras sintomáticas

De cada una de las diez zonas bajo estudio se tomó una muestra compuesta por al menos cinco submuestras consistentes de dos folíolos de plantas con síntomas de mosaico rugoso (MR), enrollamiento foliar (EF), enanismo (EN) y AV, con el fin evaluar la asociación de dichos síntomas con la presencia de alguno(s) de los virus bajo análisis. Para la detección de los virus PLRV, PVX y PVS, se utilizaron pruebas de DAS-ELISA y para potyvirus (PVY y PVA) de ACP-ELISA. Todas las pruebas fueron adquiridas en la compañía Agdia (Indiana, EEUU). Para la detección de PYVV se utilizaron pruebas de RT-PCR, al no existir en el mercado anticuerpos comerciales para su diagnóstico serológico. Las pruebas de ELISA fueron evaluadas en un equipo Multiscan (LabSystem, Finlandia), e incluyeron un control positivo (suministrado por el fabricante) y un control negativo. Los pozos fueron considerados con reacción positiva cuando la lectura de absorbancia a 405 nm presentó un valor mínimo del doble de la lectura obtenida en el control negativo [15].

Para la determinación de las relaciones entre virus/síntomas se consideró el siguiente modelo lineal generalizado (Ec.3):

$$\text{logit}(E[\mathbf{y}]) = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}_1\mathbf{u}_1 + \mathbf{Z}_2\mathbf{u}_2 + \mathbf{Z}_3\mathbf{u}_3 + \mathbf{e} \quad (\text{Ec.3})$$

donde, \mathbf{X} y $\boldsymbol{\beta}$ son la matriz de presencia $n \times s$ y el vector de efectos de síntomas visuales $s \times 1$ ($s = \{\text{AV, MR, ER, EN}\}$); \mathbf{y} es el vector de observaciones $n \times 1$ de presencia/ausencia del virus según el resultado de ELISA. Todos los demás parámetros fueron iguales a los definidos para el modelo de síntomas virales.

Detección molecular de PYVV

Para la detección del PYVV se evaluaron al menos dos muestras con síntomas de AV por cada zona de estudio. Adicionalmente, la presencia de PYVV se determinó en tres muestras presentando síntomas de MR, EN y EF obtenidas en el municipio de la Unión (Antioquia).

Para esto se amplificó mediante RT-PCR del gen CP utilizando los cebadores PYVCPF (5'-ATG GAA ATC CGA TCG TGG AAC CT-3') y PYVPCR (5'-CTA CTC AAT AGA TCC TGC TA-3') [12,13]. El ARN molde se obtuvo a partir de extracciones de ARN total con el kit RNeasy plant mini (Qiagen, California, USA). Diez de los amplicones del tamaño esperado, fueron purificados con el kit QIAquick Gel Extraction (Qiagen), para proceder a su secuenciación en ambos sentidos en un equipo ABI Prism 3730xl (PE Applied Biosystems) de la compañía Macrogen (Corea del Sur). Las secuencias obtenidas con cada cebador fueron editadas con el programa BioEdit 6.0.6 y confirmada su identidad mediante BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). Esta información sirvió de base para realizar el análisis de las relaciones filogenéticas de las cepas virales encontradas de PYVV y aquellas previamente depositadas en las bases de datos moleculares. Para esto se alinearon las secuencias mediante el software Clustal W y la matriz generada fue utilizada para obtener un árbol filogenético basado en Máxima Parsimonia utilizando la opción *Heuristic search* del programa PAUP 4.0b, con la orden *tree-bisection reconnection* (TBR). El soporte de la topología interna de los dendrogramas fue determinado por análisis de *bootstrap* con 1000 remuestros.

Adicionalmente y con el fin de obtener un mayor nivel de información sobre las características del genoma de dos de los aislamientos de PYVV bajo estudio, se realizaron RT-PCR con los cebadores CPm1 (5'-ATG GAT AAG TCT GTT TTA GAT G-3') y CPm2 (5'-TCA AAA GTT TTG ATT CAC ATT C-3') que amplifican el gen de la cápside menor (Cpm) de este virus [12]. Para realizar el ensamblaje de los genomas parciales, las secuencias se editaron con el programa Bioedit 6.0.6, verificándose el marco de lectura con el servidor de Expasy (<http://www.expasy.ch/tools/dna.html>). Luego se procedió a su alineamiento con respecto a genomas completos de PYVV disponibles en GenBank y finalmente se generó un ensamble en *contigs* con la herramienta ContigExpress del software vector NTI (versión 11.0 Invitrogen Corporation 2008).

RESULTADOS

Evaluación de síntomas

Las observaciones visuales indicaron la presencia de al menos un SCAV en el 32% de las 8000 plantas evaluadas en el campo (100 plantas x 8 lotes x 10

Cuadro 1. Procedencia de las muestras de tejido foliar de papa utilizadas para la evaluación de incidencia viral.

Departamento	Zona	Municipio	Vereda	N° Lotes	
Antioquia	Oriente	La Unión	Buena Vista	1	
			El Vergel	1	
			San Juan	1	
			El Cardal	1	
		Sonsón	Tasajo	3	
			La Honda	1	
	Oriente Cercano	Santuario	El Carmelo	3	
		Marinilla	La Ramada	1	
			Alto de Mercado	1	
			Barbacoa	1	
		Carmen de Viboral	Cabecera	2	
	Norte	Sta Rosa de Osos	El Roble	5	
Santana			3		
Chasques			3		
Cundinamarca	Villapinzón	Villapinzón	Cabecera	1	
			Quincha	3	
			Bosabita	1	
			San Jorge	3	
	Zipaquirá	Zipaquirá	Alto del Águila	2	
			Páramo de Guerrero	2	
			Venta Larga	1	
	Occidente	Cota	Parcelas	1	
			La Variante	2	
			Madrid	Los Árboles	3
			Facatativá	Cabecera	2
Boyacá	Turmeque-Ventaquemada (TV)	Turmequé	Joyagua	1	
			Siguineque	1	
			Chiratá	1	
			Juratá y Rosales	2	
		Ventaquemada	Sota	1	
			Capellanía	2	
		Tunja	Siachoque	Cormechoque	3
				Jurubita	3
	Nariño	Pasto	Pasto	Quebrada Vieja	2
				Santa Bárbara	1
La Victoria				3	
Catambuco				1	
Cruz Loma				1	
Jongovito				1	
Ipiales		Ipiales	Obonuco	1	
			Sagarán	1	
			El Placer Bajo	1	
			Suras	2	
			El Chita	1	
			Giro San Antonio	3	

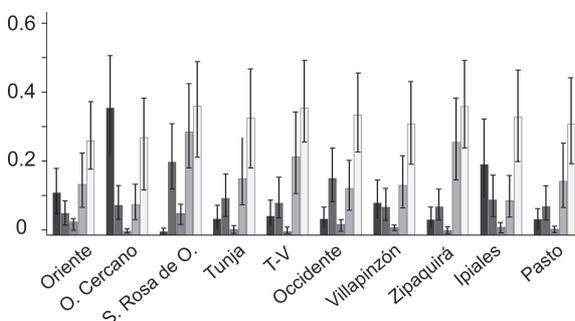
zonas), siendo el MR el síntoma más incidente, con un promedio del 16%, seguido por el EF (10%) y el AV (7%). El síntoma EN fue el menos visible en el campo, alcanzando un promedio del 2%.

Las observaciones de síntomas visuales entre cultivos de papa de diferentes departamentos, demostraron mayor niveles de incidencia en Antioquia para los cuatro síntomas evaluados, alcanzando promedios del 34% para el MR, 20% para AV, 18% para EF y 7% para EN; mientras que dichos niveles en Boyacá y Cundinamarca fueron muy similares, al no superar el 15% para ningún síntoma. En los cultivos de Nariño se presentaron bajos niveles de incidencia (<10%) para los cuatro síntomas evaluados.

En el análisis por departamento, se evidenció que la región Oriente cercano de Antioquia presentó las incidencias más altas respecto al síntoma AV (37%), siendo significativamente superior al resto de las zonas, con excepción de Ipiales, cuyo promedio fue de 20%. Las dos zonas con mayores promedios para EF, fueron Santa Rosa de Osos (Antioquia) y Occidente (Cundinamarca), cuyos valores fueron 22% y 17%, respectivamente. EN fue el síntoma con los menores promedios de incidencia en todas las zonas, encontrándose en rangos de 1% a 5%. Por último, MR fue más frecuente en la zona de Santa Rosa de Osos (Antioquia), con promedios del 30%, seguido por Zipaquirá (Cundinamarca) con el 27% (Figura 1).

Al realizar las evaluaciones visuales de los síntomas presentes en los cultivos de papa del país, se trató de

Figura 1. Promedio de observaciones de plantas de papa con síntomas asociados a enfermedades virales.



AV: amarillamiento de venas, EF: enrollamiento foliar, EN: enanismo y MR: mosaico rugoso. Sint: representa observaciones con al menos uno de los síntomas evaluados. Las líneas dentro de las barras indican los intervalos de confianza al 95%

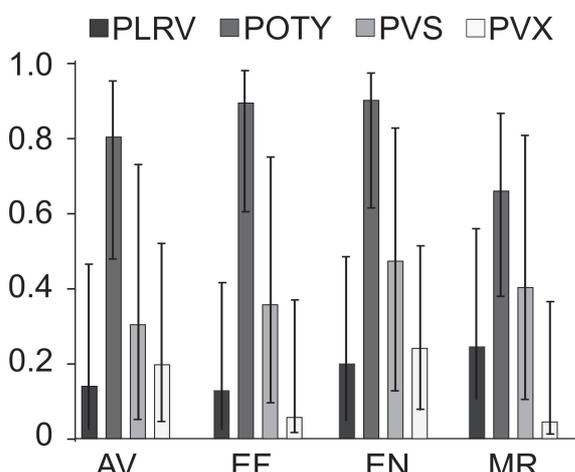
simular la actividad realizada por los técnicos de campo y agricultores para determinar la presencia o no de afecciones virales. Como resultado se evidenció que no siempre se presentan síntomas individuales, sino que éstos generalmente pueden estar combinados y que como es bien sabido, no siempre corresponden a enfermedades virales, por lo que son referidos en este trabajo como SCAV. Es así como algunos amarillamientos y rugosidades foliares, pueden ser debidos a desórdenes fisiológicos ocasionados por exceso en las aplicaciones de biocidas (fitotoxicidad), cambios drásticos en las condiciones ambientales y de nutrición de los cultivos, así como a quimeras genéticas, siendo en todos los casos necesario confirmar la presencia del agente causal viral mediante pruebas biológicas, microscópicas, serológicas o moleculares [17]. Adicionalmente, La asociación de un determinado síntoma con la presencia de virus como PVS, PVX o PMTV no es fácil, pues frecuentemente estos virus inducen mosaicos o amarillamientos muy tenues, generalmente indistinguibles para un observador inexperto, que varían con las cepas del virus, el cultivar y las condiciones ambientales [2, 16, 18].

Detección serológica de virus en muestras sintomáticas

No se encontró ninguna relación significativa para las combinaciones virus/síntomas evaluados, por el contrario, esta evaluación detectó la ocurrencia de potyvirus en promedios superiores al 68% para los cuatro síntomas, alcanzándose valores tan altos como 90% en plantas con EF y EN. Así mismo, las pruebas de ELISA detectaron en una alta proporción de plantas sintomáticas la presencia de PVS (>30% para los cuatro síntomas); mientras que PLRV se detectó en un rango del 13 al 25% de las muestras con diferentes síntomas. Por último, PVX fue el virus con menores niveles de detección en plantas con síntomas de MR y EF (< 6%), aunque su presencia en plantas con AV y EN superó el 20% (Figura 2). Este ensayo confirma la necesidad de reevaluar la creencia generalizada en técnicos y agricultores de papa de que plantas presentando síntomas particulares estarían afectadas por una especie viral determinada. Este es el caso de AV, donde se detectaron los cuatro virus evaluados en promedios superiores al 15%, no siendo entonces el PVV el único virus presente en dichas muestras.

Sin embargo, al evaluar estos resultados, es necesario contemplar la posible ocurrencia de otros virus no determinados en este trabajo, pues según Wei *et al.*

Figura 2. Niveles de detección serológica de Potyvirus, PLRV, PVS y PVX en plantas de papa.



AV: amarillamiento de venas, EF: enrollamiento foliar, EN: enanismo y MR: mosaico rugoso. Las líneas dentro de las barras indican los intervalos de confianza al 95%

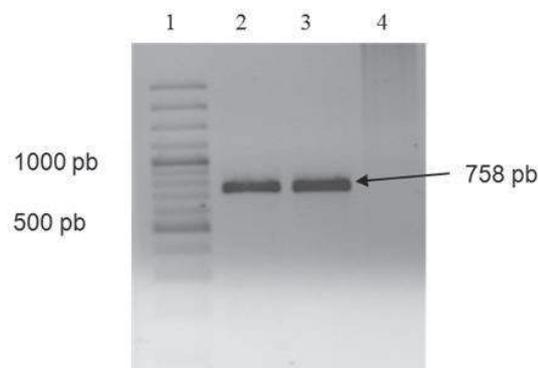
[19] al menos 39 virus afectan este cultivo en el mundo. También se deben tener presentes las diferencias en las reacciones de las variedades y en las épocas de muestreo para cada una de las zonas estudiadas, ya que es bien conocido que la temperatura, precipitación, poblaciones de insectos vectores y estado fenológico del cultivo, entre otros factores, influyen dramáticamente en la manifestación de los síntomas inducidos por virus [2, 3].

Un antecedente que demuestra la necesidad de realizar monitoreos regulares sobre los cultivos de papa, es el trabajo llevado a cabo por Vásquez *et al.* [20] en Costa Rica para identificar los virus presentes en los cultivos de ese país. Dicho estudio contempló la evaluación de la incidencia de seis virus incluidos en su programa de certificación de semilla, además de siete virus no determinados en éste, empleando para ello pruebas de ELISA. Como resultado se encontró que virus no incluidos como *Potato aucuba mosaic virus* (PAMV) y *Tobacco ringspot virus* (TRSV) presentaron incidencias muy altas e incluso superiores a las de los virus comúnmente diagnosticados en el cultivo como PVY y PLRV [20].

Detección molecular de PYVV

Se obtuvieron fragmentos de 758 pb en las 20 muestras foliares evaluadas presentando el síntoma AV, lo cual confirma la presencia inequívoca de PYVV cuan-

Figura 3. Amplicones obtenidos con los cebadores PYVWCPF y PYVWCPR en plantas de papa.



1: Marcador 100pb, 2: AVUni Unión, 3: AVF4 Facatativá, 4: Control negativo

do se presenta dicho síntoma (Figura 3). Sin embargo, este virus también fue detectado en una muestra con MR y sin síntomas aparentes de AV, lo cual indica que la ausencia de síntomas no necesariamente implica ausencia de PYVV en las plantas de papa. Esta situación ya había sido planteada en diferentes estudios que indicaban que el virus puede permanecer latente en diferentes cultivares de papa, siendo necesaria la utilización de metodologías de diagnóstico diferentes a la simple observación visual de los síntomas [5, 6, 10].

Por otra parte, un total de diez secuencias completas de la región CP amplificadas en PYVV fueron obtenidas en el presente estudio, utilizándose además para el análisis filogenético otras diez secuencias de referencia previamente depositadas en el GenBank de cepas de PYVV procedentes de cultivos de papa de Colombia y Perú. El análisis de secuencias indicó niveles de identidad para la región CP superiores al 99% en todos los casos. La identidad entre cepas de PYVV y aquella utilizada como grupo externo: *Lettuce infectious yellows virus* (LIYV), especie tipo del género *Crinivirus*, fue menor a 45% en todas las comparaciones realizadas.

El análisis filogenético utilizó 749 posiciones, 328 de las cuales resultaron constantes, 407 variables pero no informativas y 14 informativas para el método de máxima parsimonia. El dendrograma presentó un Índice de Consistencia (CI) de 0,99, Índice de Retención (RI) de 0,90 y un Índice de Homoplasia (HI) de 0,0 y agrupó las cepas de PYVV bajo análisis en un sólo clado soportado por un 100% de valor de *bootstrap*. Este clado incluyó indistintamente cepas de referencia pre-

CONCLUSIONES

Evaluaciones visuales de síntomas comúnmente asociados a enfermedades virales en cultivos de papa de cuatro departamentos de Colombia indicaron la ocurrencia de al menos un síntoma de los cuatro evaluados (AV, EF, EN, MR) en más del 30% de las plantas observadas, siendo los síntomas MR y EF los más incidentes con 16% y 10%, respectivamente, aunque en regiones como el Oriente Antioqueño, el AV se observó en niveles tan altos como el 37% de las plantas muestreadas.

La presencia de Potyvirus, PVS, PLRV y PVX fue confirmada mediante pruebas de ELISA en muestras foliares de papa presentando los cuatro síntomas evaluados. De igual forma, el PYVV se detectó mediante RT-PCR con cebadores específicos para CP en muestras con AV, pero también en al menos una con MR. Por esto, la simple evaluación visual de síntomas debe ser acompañada de pruebas serológicas, microscópicas o moleculares que permitan identificar con precisión los agentes causales de las enfermedades virales de papa.

Se encontraron muy bajos niveles de variación (<2%) entre aislamientos colombianos de PYVV a partir de la secuenciación del gen CP, confirmándose resultados de trabajos previos que señalan una estrecha base genética para ésta especie viral en los Andes suramericanos.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia (proyecto 2007s4527-87). Se agradece a la Prof. Luz Estela Lagos de la Universidad de Nariño, por el apoyo en la colección de las muestras en Nariño.

REFERENCIAS

- [1] INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO. [online]. 2013. Disponible: <http://www.ica.gov.co/Paginas-Especiales/> [citado 15 de Noviembre de 2013].
- [2] KERLAN, C. En: Desk enciclopedia of plant and fungal virology. Potato viruses. 1 ed. Londres (Reino Unido): Academic Press, 2010, p. 458-470.
- [3] HALTERMAN, D., CHARKOWSKI, A. and VERCHOT, Y.J. Potato, viruses, and seed certification in the USA to provide healthy propagated tubers. *Pest Technology*, 6(1), 2012, p. 1-14.
- [4] WANG, B., MA, Y., ZHANG, Z., WU, Z., WU, Y., WANG, Q. and LI, M. Potato viruses in China. *Crop Protection*, 30(9), 2011, p. 1117-1123.
- [5] GUZMAN-BARNEY, M., FRANCO-LARA, L., RODRIGUEZ, D., VARGAS, L. and FIERRO, J.E. Yield losses in *Solanum tuberosum* group *phureja* cultivar Criolla Colombia in plants with symptoms of PYVV in field trials. *American Journal of Potato Research*, 89(6), 2012, p. 438-447.
- [6] GUZMÁN-BARNEY, M., HERNANDEZ, A.K. and FRANCO-LARA, L. Tracking Foliar Symptoms Caused by Tuber-Borne *Potato yellow vein virus* (PYVV) in *Solanum Phureja* (Juz et Buk) Cultivar "Criolla Colombia". *American Journal of Potato Research*, 90(3), 2013, p 284-293.
- [7] GUTIÉRREZ, P.A., ÁLZATE, J.F. and MARÍN, M. 2013. Complete genome sequence of a novel *Potato virus S* strain infecting *Solanum phureja* in Colombia. *Archives of Virology*, 158(10), 2013, p. 2205-2208.
- [8] FROST, K., GROVES, R. and CHARKOWSKI, A. 2013. Integrated control of potato pathogens through seed potato certification and provision of clean seed potatoes. *Plant Disease*, 97(10), 2013, p. 1268-1280.
- [9] GÚZMAN, M. and RODRÍGUEZ, P. Susceptibility of *Solanum phureja* (Juz. et Buk.) to Potato yellow vein virus. *Agronomía Colombiana*, 28(2), 2010, p. 219-224.
- [10] LÓPEZ, R., ASENSIO, C., GUZMAN, M. and BOONHAM, N. Development of real-time and conventional RT-PCR assays for the detection of *Potato yellow vein virus* (PYVV). *Journal of Virological Methods*, 136(1), 2006, p. 24-29.
- [11] LIVIERATOS, I.C., ELIASCO, E., MÜLLER, G., OLSTHOORN, R.C.L., SALAZAR, L.F., PLEIJ, C.W.A. and COUTTS, R.H.A. Analysis of *Potato yellow vein virus* RNA: evidence for a tripartite genome and conserved 3'-terminal structures among members of the genus *Crinivirus*. *Journal of General Virology*, 85(7), 2004, p. 2065-2075.
- [12] LIVIERATOS, I.C., MULLER, G., SALAZAR, L.F., ELIASCO, E. and COUTTS, R.H.A. Identification and sequence analysis of *Potato yellow mosaic virus* capsid protein minor gene. *Virus Genes*, 25(3), 2002, p. 317-322.
- [13] OFFEI, S.K., ARCINIEGAS, N., MÜLLER, G., GUZMÁN, M., SALAZAR, L.F. and COUTTS, R.H.A. Molecular variation of *Potato yellow vein virus* isolates. *Archives of Virology*, 149(4), 2004, p. 821-827.

- [14] RODRIGUEZ-BURGOS, P., CHAVES, G., FRANCO-LARA, L. and GUZMAN-BARNEY, M. Low molecular variability of *Potato yellow vein virus* (PYVV) isolates of *Solanum phureja* and *Solanum tuberosum* from Colombia. *Phytopathology*, 100(S1), 2010, p. 176.
- [15] HULL. R. *Plant virology*. 5 ed. Londres (Reino Unido): Academic Press, 2014, 1104 p.
- [16] GARCÍA, N., GUTIÉRREZ, P. y MARÍN, M. Detección y cuantificación del *Potato mop-top virus* (PMTV) en Colombia mediante qRT-PCR. *Acta Agronómica*, 62(2), 2013, p. 120-128.
- [17] KOENING, R., LESEMANN, D.E., ADAM, G. and WINTER, S. En: *Desk encyclopedia of plant and fungal virology. Diagnostic techniques: plant viruses*. 1 ed. Londres (Reino Unido): Academic Press, 2010, p. 18-30.
- [18] BOONHAM, N., KREUZE, J., WINTER, S, VAN DER VLUGT, R., BERGERVOET, J., TOMLINSON, J. and MUMFORD, R. *Methods in virus diagnostics: From ELISA to next generation sequencing*. *Virus Research*, 181, 2014, p. 1-12.
- [19] WEI, T., LU, G. and CLOVER, G.R.G. A multiplex RT-PCR for the detection of *Potato yellow vein virus*, *Tobacco rattle virus* and *Tomato infectious chlorosis virus* in potato with a plant internal amplification control. *Plant Pathology*, 58(2), 2009, p. 203-209.
- [20] VÁSQUEZ, V., MONTERO-ASTÚA, M., y RIVERA, C. Incidencia y distribución altitudinal de 13 virus en cultivos de *Solanum tuberosum* (Solanaceae) en Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 54 (4), 2006, p. 1135-1141.