

Revisión: *Spongospora subterranea* f.sp. *subterranea* y su Virus Asociado *Potato mop-top virus* (PMTV), Dos Patógenos Reemergentes en los Cultivos de Papa de Colombia

Review: *Spongospora subterranea* f.sp. *subterranea* and its Associated Virus *Potato mop-top virus* (PMTV), Two Re-emerging Pathogens of Potato Crops in Colombia

Inés Osorio Giraldo¹; Pablo Andrés Gutiérrez² y Mauricio Marín Montoya³

Resumen. El cultivo de papa es uno de los renglones agrícolas de mayor importancia en Colombia; se extiende a 128.701 ha y genera una producción anual de 2,3 millones de t año⁻¹. Desde el punto de vista fitosanitario, la papa se ve afectada por diversos problemas, destacándose en los últimos años la reemergencia de la sarna polvosa causada por el protozoario del suelo *Spongospora subterranea* f.sp. *subterranea* (Sss). El efecto de esta enfermedad se refleja en el deterioro de la calidad del tubérculo y en la reducción de la producción, al afectar el sistema radicular y los tubérculos. Además, Sss es el vector natural del *Potato mop-top virus* (PMTV), uno de los virus prevalentes en la región Andina y que presenta carácter cuarentenario en diferentes países del mundo. En esta revisión se presenta el estado de conocimiento que se tiene en el mundo sobre éstos dos fitopatógenos, haciendo énfasis en los principales hallazgos que se han realizado en Colombia sobre sus niveles de variación genética, efecto sobre la producción y métodos de detección. Se espera que la información presentada, llame la atención a los organismos estatales de sanidad vegetal, gremios de productores, asistentes técnicos y agricultores, sobre la importancia creciente que presentan dichos patógenos en los sistemas de producción de papa. Además, que sirva de base para el diseño de herramientas de diagnóstico que apoyen los esquemas de certificación de tubérculo semilla y los programas de mejoramiento genético de papa que se adelantan en Colombia.

Palabras clave: ELISA, PCR, Protozoa, *Pomovirus*, sarna polvosa, *Solanum tuberosum*.

Abstract. Potato is one of the most important crops in Colombia, comprising 128.701 ha and a total production of 2.3 million t year⁻¹. There are several phytopathological problems affecting this crop, however, the soil protozoan *Spongospora subterranea* f.sp. *subterranea* (Sss), the causal agent of powdery scab, stands out due to its recent reemergence. Powdery scab can seriously deteriorate tuber quality and reduce production as a result of root and tuber-damage. Moreover, Sss is a vector for *Potato mop-top virus* (PMTV), a prevalent virus in the Andean region and quarentenary in several countries. This paper presents a state of the art review on these two pathogens with special emphasis on findings about genetic variability, detection methods and their effect on potato production in Colombia. Hopefully, this review will call the attention of state organizations, potato associations, technical assistants and farmers on the increased importance of these pathogens in production of potato in Colombia. Additionally, this paper may help support tuber-seed certification and genetic improvement programs currently underway.

Key words: ELISA, PCR, Protozoa, *Pomovirus*, powdery scab, *Solanum tuberosum*.

En Colombia el cultivo de la papa ocupa cerca de 128.701 ha distribuidas en 14 departamentos, de los cuales Antioquia, Boyacá, Cundinamarca y Nariño son responsables del 87% de la producción (MADR, 2009). La cadena de la papa en Colombia enfrenta un gran número de desafíos endógenos y exógenos que disminuyen su competitividad respecto a los demás países del mundo y en especial con relación a los otros miembros de la Comunidad Andina de Naciones. Entre otros factores, los más limitantes son

aquellos relacionados con la carencia de tecnología en los sistemas de producción y de post-cosecha, la alta dependencia de insumos agrícolas y el bajo nivel de acople entre el sector primario y el de procesamiento industrial (MADR, 2006). Desde el punto de vista fitosanitario, el cultivo de la papa se ve afectado por diversos fitopatógenos e insectos plagas, destacándose en los últimos años la reemergencia de la enfermedad denominada sarna polvosa de la papa causada por el protozoario *Spongospora subterranea*

¹ Ingeniera Agrónoma. Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín - Facultad de Ciencias - Laboratorio de Biología Celular y Molecular. A.A. 3840, Medellín, Colombia. <inesosorio@gmail.com>

² Profesor Asociado, Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín - Facultad de Ciencias - Laboratorio de Microbiología Industrial. A.A. 3840, Medellín, Colombia. <paguties@unal.edu.co>

³ Profesor Asociado, Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín - Facultad de Ciencias - Laboratorio de Biología Celular y Molecular. A.A. 3840, Medellín, Colombia. <mamarinm@unal.edu.co>

Recibido: Abril 09 de 2012; aceptado: Mayo 28 de 2012.

(Wallroth) Lagerheim f. sp. *subterranea* Tomlinson (*Sss*). Su efecto no solo se debe a la reducción en la producción, sino también al deterioro en la calidad y apariencia cosmética de los tubérculos, que afecta drásticamente su valor en el mercado. Además, *Sss* es el vector natural del *Potato mop-top virus* (PMTV), uno de los problemas virales prevalentes en la región Andina y que presenta carácter cuarentenario para diferentes países del mundo (Santala *et al.*, 2010). Aunque se cree que este virus tiene como centro de origen los Andes suramericanos, no se ha establecido con certeza su efecto sobre el rendimiento de las variedades allí cultivadas, ni determinado claramente los síntomas que causa en sus hospedantes (Salazar, 2006). De esta forma, no es frecuente encontrar la sintomatología asociada a este virus reportada para la región templada, que incluye amarillamiento foliar, anillos necróticos ("*Spraing*") y cuarteamiento o agrietamiento de tubérculos y moteados foliares tipo "Aucuba" (Xu *et al.*, 2004; Gil *et al.*, 2011).

Adicionalmente a esta problemática, la diseminación de *Sss* se viene incrementando dramáticamente en el país, como resultado de la deficiente calidad de la semilla utilizada por la mayoría de los agricultores, la ausencia de variedades tolerantes a dicho patógeno y la carencia/deficiencia de asistencia técnica estatal o gremial, que no cuenta con herramientas apropiadas para el diagnóstico asintomático y para la certificación de semilla libre de *Sss* y PMTV (Gil *et al.*, 2011).

En Colombia, la sarna polvosa de la papa se ha reportado causando pérdidas de hasta el 50% de las cosechas en las variedades parda pastusa, diacol capiro (*Solanum tuberosum* L.) y papa criolla (*S. phureja* (Juz. et. Buk)) (SINAIPA, 2002). Por otra parte, se estima que el PMTV puede causar pérdidas hasta del 25% en este cultivo, lo cual adicionado al daño causado por *Sss*, pudiera generar disminuciones de 50-80% en la producción (Jones y Harrison, 1972; Guerrero, 1997, 2000). Recientemente, Gilchrist *et al.* (2011) en un estudio realizado en Colombia tendiente a cuantificar el impacto de la sarna polvosa sobre el crecimiento y producción de la variedad de *S. tuberosum* diacol capiro, encontraron que esta enfermedad causa una reducción del 23% sobre la longitud de las plantas, del 32% en el peso seco foliar y del 30% en el peso de los tubérculos; aunque el número de éstos no fue afectado.

En esta revisión se presenta el estado de conocimiento de la biología y patogenicidad de *Sss* y su virus

asociado PMTV sobre el cultivo de la papa, con el fin de difundir entre los diferentes actores de la cadena productiva de la papa en Colombia sus principales características, su importancia creciente y la necesidad de implementar programas de detección asintomática y temprana de ambos patógenos, que apoyen los esquemas cuarentenarios dirigidos a evitar su diseminación hacia zonas libres de la enfermedad, la certificación del tubérculo semilla y los programas de mejoramiento genético.

El cultivo de la papa en Colombia. En Colombia, el cultivo de la papa participa con el 7,1% de la superficie sembrada en cultivos transitorios y aporta cerca de 7,8% de la producción agrícola, generando alrededor de 69.000 empleos directos, principalmente en los departamentos de Cundinamarca, Boyacá, Nariño y Antioquia (MADR, 2009). En 2009, el área sembrada de papa fue de 128.701 ha con una producción de 2.272.772 t y un rendimiento de 18,4 t ha⁻¹ (MADR, 2009). La participación departamental en la producción nacional se encuentra distribuida de la siguiente manera: Cundinamarca 37,8%, Boyacá 26,3%, Nariño 16,4%, Antioquia 6,5%, Santander 5,6% y otros departamentos participan con el 6,4% (MADR, 2009).

Los cultivos de papa se encuentran distribuidos en climas fríos con temperaturas de 13 °C y alturas de 2.000 msnm hasta alcanzar zonas de páramo con alturas cercanas a los 3.500 msnm y temperaturas de 8 °C. Geográficamente, las unidades de producción están dispersas principalmente en las regiones frías de la zona Andina, bajo una variada gama de condiciones biofísicas, económicas y sociales. En términos generales, alrededor del 75% del área cultivada con papa en el país se encuentra en zonas de topografía quebrada y ondulada (MADR, 2005). Según Villareal *et al.* (2007), en el país existen alrededor de 30 variedades de papa cultivada, pero sólo 10 de éstas tienen importancia comercial. La parda pastusa, es la variedad más cultivada y consumida en fresco, le siguen la variedad diacol capiro, utilizada para consumo en fresco, exportación y por la industria de alimentos como materia prima. La variedad ICA-Puracé es cultivada en algunas regiones de clima templado del país para consumo en fresco; la tuquerreña o sabanera se consume principalmente en Bogotá y la criolla se cultiva principalmente en los departamentos de Antioquia y Cundinamarca. Recientemente, en el país se han desarrollado nuevas variedades que han ingresado al mercado como las

variedades Esmeralda, Rubí, UNICA e ICA Morita que tienen altas posibilidades comerciales en el corto plazo, dada su resistencia a diferentes enfermedades y alta adaptabilidad a condiciones específicas del cultivo.

Una de las principales limitantes técnicas del cultivo de la papa corresponde a las plagas y enfermedades. Dentro de las enfermedades, el tizón tardío o gota causado por *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, es la amenaza más seria del cultivo. También se presentan el tizón temprano (*Alternaria solani* Sorauer), la roña (*Rhizoctonia solani* Kühn), la sarna común (*Streptomyces scabies* (Thaxter) Waksman et Henrici.), la mortaja blanca (*Rosellinia* sp.), las virosis (PVY, PVX, PLRV, PVV, PVS) y la sarna polvosa. Esta última enfermedad, se ha convertido en una de las principales problemáticas de cultivo a nivel mundial (Harrison *et al.*, 1997; Merz y Falloon, 2009). Es causada por el protozoo *Spongospora subterranea* f.sp. *subterranea* (Sss), parásito obligado de plantas superiores. Esta enfermedad causa daños directos sobre las raíces y tubérculos y además es vector del PMTV (Jones y Harrison, 1969; Harrison *et al.*, 1997; Andersen *et al.*, 2002; Merz y Falloon, 2009), enfermedad viral que afecta este cultivo en varias regiones productoras de papa en el mundo.

Generalidades de Sss

Taxonomía. Sss es el agente causal de la sarna polvosa de la papa. El primer reporte de esta enfermedad data de 1841 en Alemania y a partir de esta fecha, su registro incluye todos los continentes (Harrison *et al.*, 1997; Merz y Fallon, 2009). Según Lyman y Rogers (1915) el patógeno es originario de los Andes suramericanos, desde donde se dispersó gracias al mercado mundial de tubérculos de papa. A pesar de haber transcurrido más de 150 años desde su primer registro, la enfermedad sólo ha cobrado importancia en las últimas décadas como resultado de la siembra generalizada de materiales altamente susceptibles al patógeno, la utilización de sistemas de riego en los cultivos, los cambios de épocas de siembra hacia período húmedos, las deficiencias en los sistemas de rotación de cultivos, la falta de programas cuarentenarios y los altos estándares exigidos por el mercado en la calidad cosmética de los tubérculos (Harrison *et al.*, 1997).

Sss es un protozoo plasmodial que taxonómicamente se ha ubicado en el Reino Protozoa, División

Myxomycota, Clase Plasmodiophoromycetes y en la Familia Plasmodiophoraceae, donde se encuentran otros ocho géneros cuyas diferencias morfológicas se basan en el arreglo de las estructuras de resistencia. El género *Spongospora* tiene cuatro miembros reconocidos, dos de ellos: *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* y *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerheim f. sp. *nasturtii* Tomlinson, que fueron inicialmente definidos como forma especialis, son importantes patógenos de plantas (Merz y Falloon, 2009). Dick (2001) propuso con base en análisis filogenéticos, que dichos microorganismos debieran ser considerados como especies diferentes, hipótesis taxonómica que hoy se acepta plenamente (Merz, 2008).

Ciclo de vida Sss. Sss y otros plasmodiofóridos se caracterizan por presentar zoosporas biflageladas (3-4 µm diámetro) de desigual tamaño con mastigonemas y posición opuesta, que se liberan a partir de las estructuras de resistencia (quistes). Los quistes (4 µm diámetro) pueden sobrevivir en el suelo por largos períodos de tiempo y generalmente se encuentran agregados formando estructuras denominadas quistosoros (hasta 85 µm diámetro), los cuales son esféricos u ovoides y presentan un centro vacío. Bajo condiciones de alta humedad, es frecuente la liberación de una zoospora uninucleada, aunque se cree que la germinación de los quistes responde a un patrón escalonado que garantiza la generación de inóculo infectivo por largos periodos de tiempo. Una vez en el suelo, las zoosporas se desplazan varios centímetros y son atraídas por los exudados de las raíces de sus plantas hospedantes, adhiriéndose, enquistando y formando un tubo germinativo que ejerce fuerza mecánica para su penetración directa en la planta. Posteriormente, el patógeno desarrolla un plasmodio multinucleado con membrana simple y ausencia de pared celular. Eventualmente, el plasmodio se cliva dando lugar a múltiples zoosporangios, cada uno de los cuales puede generar hasta ocho zoosporas que son liberadas por un poro germinativo y continúan con la infección de otras células radiculares. Estas zoosporas, denominadas secundarias, son indistinguibles de las que inician la infección (primarias) y ambas pueden infectar lenticelas no suberizadas de tubérculos, comenzando a inducir el síntoma típico de la sarna, que toma apariencia corchosa a partir del desarrollo de una capa de protección a nivel del peridermo del tubérculo. Es frecuente además, que el patógeno induzca hipertrofia e hiperplasia en los tejidos afectados, dando origen a las agallas

y deformaciones características de la enfermedad. Al final del ciclo, en los plasmodios se reorganiza su contenido protoplasmático, rodeándose de pared celular los núcleos presentes y generándose quistes que servirán de inóculo para sucesivas infecciones (Harrison *et al.*, 1997; Merz, 2008).

El ciclo de vida de *Spongospora*, es diferenciado por Merz (2008), de acuerdo a la ocurrencia de dos fases: una fase esporogénica y una segunda fase esporangial, cada una iniciada por la infección de la célula huésped a través de un plasmodio individual. En la fase esporangial, numerosas zoosporas secundarias son formadas en el esporangio de paredes delgadas en las células epidermales de la raíz y los pelos radicales del huésped, en las cuales las zoosporas son formadas desde un plasmodio esporangiogénico. Las zoosporas secundarias también biflageladas pueden salir del huésped e iniciar otro ciclo de infección. La fase esporogénica se presenta después de la división nuclear dentro del plasmodio esporogénico. El patógeno produce esporas de reposo de pared gruesa, las que son altamente resistentes a condiciones extremas. Cada espora de reposo libera una sola zoospora primaria biflagelada.

En Colombia, Hoyos *et al.* (2009) realizaron observaciones histológicas de estructuras celulares asociadas a *Sss*, encontrando plasmodios, plasmodios enquistados, plasmodios en estado de división, células únicas y quistosoros, en raíces de plantas de papa asintomáticas, indicando que la infección puede estar presente sin desarrollo evidente de síntomas y que los quistosoros no son las únicas estructuras presentes en los tejidos de las variedades de papa afectados por el patógeno.

Rango de hospedantes de *Sss*. Diversas investigaciones han encontrado la presencia de zoosporangios de *Sss* en plantas de otras familias diferentes a la Solanaceae, como Alzooaceae, Apiaceae, Asteraceae, Boraginaceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Fabaceae, Geraniaceae, Lamiaceae, Plantaginaceae, Papaveraceae, Poaceae, Polygonaceae, Ranunculaceae, Rubiaceae, Resedaceae, Solanaceae y Urticaceae (Jones y Harrison, 1969; Andersen *et al.*, 2002). Andersen *et al.* (2002), encontraron diferentes tasas de infección desarrolladas por el patógeno en especies como: *Artemisia vulgaris* L., *Cirsium arvense* (L.) Scop., *Chamomilla suaveolens* (Pursh) Rydb., *Chenopodium album* L. Bosc ex Moq., *Galium aparine* L., *Geranium pusillum* L., *Lapsana communis* L.,

Matricaria inodora L., *Poa annua* L., *Polygonum avicular* L., *P. convolvulus* L., *Rumex acetosa* L., *R. acetosella* L., *Solanum nigrum* L., *Sonchus arvensis* L., *Urtica urens* L. y *Viola tricolor* L., lo que permitió confirmar estas 17 especies como hospedantes de *Sss*.

Aunque aparentemente *Sss* tiene un amplio rango de hospedantes, el desarrollo de los quistosoros nunca había sido observado en otros hospederos diferentes a *S. tuberosum*. Sin embargo, Qu y Christ (2006a), encontraron formación de quistosoros en seis especies de plantas: *Solanum ptycantum* Dun., *Datura stramonium* L., *Avena sativa* L., *Dactylis conglomerado* L., *Solanum lycopersicum* L. y *Brassica campestris* L. Esto indicó que el patógeno tiene la capacidad de completar su ciclo de vida en hospedantes alternos a las plantas de papa, lo que representa un aspecto epidemiológico importante. Así mismo, se encontró que las siguientes especies también son hospedantes del patógeno: *Fagopyrum esculentum* Moench, *Phleum pratense* L., *Raphanus sativus* L., *Brassica napus* L., *Trifolium pratense* L., *Secale cereale* L., *Ambrosia artemisiifolia* L., *Chenopodium album* L., *Amaranthus retroflexus* L. y *Cyperus esculentus* L. Recientemente, se ha encontrado que el patógeno puede producir agallas en *S. physalifolium* y *S. nigrum* y su patogenicidad fue confirmada por inoculación a plantas de tomate y de papa bajo condiciones de invernadero (Shah *et al.*, 2010). Estos resultados tienen consecuencias para el manejo de la enfermedad enfocado en cultivos de rotación, porque se debe tener en cuenta la existencia de especies vegetales cultivables y malezas que pueden albergar estructuras del patógeno, más aún cuando el reporte de nuevas especies hospederas continua en la actualidad. Así por ejemplo, Nitzan *et al.* (2009) reportaron recientemente que *Sss* causa agallas en las raíces de *Solanum sarrachoide* Sendtn., en donde puede completar su ciclo de vida y producir nuevas generaciones de quistosoros que son infectivos a papa. Así mismo, estudios recientes en Colombia, han registrado la presencia de estructuras del patógeno en plantas de las especies *Pennisetum clandestinum* (Hochst. ex Chiov.), *S. lycopersicum*, *S. betaceum* Cav., *S. quitoense* Lam., *Zea mays* L., *Coriandrum sativum* L., *Daucus carota* L., *Apium graveolens* L. y *Raphanus sativum* L. (Arcila *et al.*, 2011).

Síntomas de la sarna polvosa. Los síntomas de la enfermedad incluyen la inducción de lesiones pustulosas corchosas con centros polvosos formados a partir de la agregación de los quistosoros del

patógeno. Con el avance de estas lesiones es frecuente la ruptura del peridermo, aunque el nivel de penetración en los tubérculos es generalmente superficial. Bajo condiciones óptimas para el desarrollo de la enfermedad, es frecuente la unión de lesiones que generan la deformación de los tejidos y la formación de cánceres o agallas (Harrison *et al.*, 1997; Merz, 2008). En Colombia, la enfermedad además de causar los daños descritos, genera el deterioro del sistema radicular de las plantas, al inducir la formación de agallas múltiples en forma de cuentas (Cotes *et al.*, 2006) que causan la disminución de la superficie de absorción de las raíces, induciendo a la marchitez y finalmente a la muerte de las plantas. Durante el almacenamiento, la sarna polvosa puede ocasionar pudriciones secas que sirven de entrada a otros patógenos y saprófitos que deterioran aún más el producto. La infección en las raíces, especialmente cuando se forman agallas, pueden causar una reducción en el funcionamiento de la raíz por la interrupción de la toma de agua y de nutrientes (Falloon *et al.*, 2005).

En Colombia, en los departamentos de Cundinamarca, Boyacá, Nariño y Antioquia, *Sss* afecta severamente las variedades Parda Pastusa, Diacol Capiro y papa criolla (*S. phureja*). Los síntomas se observan en raíces y tubérculos, pero hay variación en las zonas paperas en cuanto a su distribución entre los diferentes órganos de la planta. En Cundinamarca, Boyacá y el norte de Antioquia es más frecuente observar pústulas sobre los tubérculos de las variedades Parda Pastusa y Diacol Capiro, mientras que en el departamento de Nariño y el oriente de Antioquia es común observar agallas en raíces. Hasta ahora no se sabe si estas diferencias se deben a variaciones en las condiciones ambientales de una región a otra, o quizás se deban a la distribución regional de diferentes razas del patógeno, y/o como respuesta a cambios ambientales (Gilchrist, 2009).

En el oriente Antioqueño, se determinó la incidencia y el grado de severidad de 23 poblaciones de *Sss* bajo el sistema de rotación entre ICA Puracé-Diacol Capiro y viceversa, en tres cosechas sucesivas y condiciones de casa-malla. Se observó que las poblaciones del patógeno, no afectaron el peso, ni causaron síntomas de sarna polvosa en los tubérculos, pero si en las raíces, con diferentes grados de severidad en las dos variedades, siendo más susceptible la variedad Diacol Capiro, que al parecer favoreció el incremento del inóculo; mientras que la ICA Puracé fue levemente

afectada y posiblemente presentó efecto supresivo sobre los quistosoros presentes en el suelo (Jaramillo y Botero, 2007).

Estudios realizados en el departamento de Nariño, encontraron diferencias en el grado de desarrollo de la enfermedad en raíces. La variedad Parda Pastusa fue la más susceptible a *Sss*, con desarrollo de agallas desde el momento de la emergencia de las plantas. La enfermedad alcanzó valores de susceptibilidad del 100% en dicha variedad, mientras que en Diacol Capiro fue de 48%. En los tubérculos, la enfermedad se manifestó por la formación de escasas y pequeñas pústulas de color castaño, con poca presencia de masas pulverulentas de quistosoros, lo que contrasta con la sabana cundiboyacense, en donde estas variedades se caracterizan por presentar una alta susceptibilidad a la sarna polvosa en tubérculos, ocasionando lesiones severas, en las que resulta fácil encontrar esporas de resistencia (Benavides, 2006).

Control de la sarna polvosa. El control de la sarna polvosa de la papa es difícil de lograr debido a la carencia de variedades comerciales resistentes y de tratamientos químicos efectivos (Qu y Christ, 2006a). El manejo de la enfermedad debe estar enmarcado bajo un esquema integrado del cultivo (MIC), en el que se incluyan aspectos como la rotación, el manejo adecuado del riego y drenaje, la sanidad del tubérculo semilla, la utilización de organismos antagonistas (i.e. *Trichoderma* spp.), la utilización de cultivos trampa, la desinfestación de herramientas de trabajo y, finalmente, una legislación que restrinja el movimiento de material contaminado y genere procesos de certificación de semilla (Harrison *et al.*, 1997; Gilchrist, 2009). Dos estrategias que en la actualidad se consideran fundamentales para apoyar los programas MIC en papa, incluyen el mejoramiento genético por resistencia al protozoario y la utilización de cultivos trampa (Merz *et al.*, 2004). Para el caso del mejoramiento, los primeros reportes en la región Andina fueron presentados por Torres *et al.* (1995), quienes evaluaron 467 accesiones, encontrando la existencia de 17 genotipos resistentes y 33 moderadamente resistentes. Por otra parte, Lees (2000) en Escocia, evaluó los niveles de resistencia a *Sss* de una serie de clones de *S. phureja*, encontrando que algunos de éstos presentaron un adecuado nivel de resistencia, por lo que esta especie fue propuesta como fuente de genes de resistencia. Merz (2000), al evaluar la reacción de 11 cultivares determinó que existe correlación entre las pruebas de invernadero

utilizando plántulas provenientes de cultivo de tejidos y la resistencia presentada en campo.

Fallon *et al.* (2003), realizaron un estudio en Australia con 99 cultivares de papa y 13 líneas de mejoramiento durante 11 años. Sus resultados indicaron que 21% de los materiales evaluados eran resistentes, mientras que el 28% presentó una resistencia moderada. Estos autores también reportaron que la expresión de la resistencia varía entre años y que los bioensayos realizados en invernadero, no siempre se correlacionaban con la respuesta presentada en campo, sugiriendo una fuerte interacción genotipo-ambiente para esta característica.

Nitzan *et al.* (2010), evaluaron la estabilidad de la resistencia genética de 24 genotipos de papa a *Sss*, en los estados de Washington e Idaho en Estados Unidos. Se identificó que la resistencia era estable al agallamiento radical causado por *Sss* y se determinó que una gran proporción de la variación fue genética. Según Merz *et al.* (2012), no existen métodos de control de *Sss* eficientes y económicos que se encuentren disponibles actualmente, por lo que la resistencia del hospedero es clave para el manejo integrado de la enfermedad; debido a esto se evaluaron 10 cultivares con diferentes rangos de susceptibilidad a *Sss* y a PMTV en diferentes países de Europa. Para evitar discrepancias en los criterios de evaluación, se utilizó una escala estándar para los niveles de la sarna polvosa, determinándose que los cultivares se comportaron como estaba establecido en su caracterización inicial (a excepción de uno de ellos). Los resultados del ensayo de campo indicaron que los diferentes métodos de valoración son el principal factor de discrepancia en las calificaciones de la resistencia y que las condiciones ambientales y/o el nivel de inóculo del suelo juegan un papel menor.

Otra estrategia con alto potencial para el manejo de la enfermedad es la rotación del cultivo con plantas trampa que reducen el nivel de estructuras de resistencia de plasmodiophoridos. Por ejemplo, es ampliamente conocido que la siembra de *R. sativus* reduce la cantidad de quistes de *Plasmodiophora brassicae* Wor. en el suelo (Murakami *et al.*, 2000), mientras que la planta *Datura stramonium* L. redujo el nivel de *Sss* en un 79% en cultivos de papa de Australia.

En Colombia, la búsqueda de herramientas para el manejo de la enfermedad bajo las condiciones de las zonas productoras de papa, se enfoca en la evaluación

de sistemas de rotación de variedades comerciales que tradicionalmente se han considerado altamente susceptibles a la enfermedad (i.e. Diacol Capiro) con variedades más tolerantes al ataque del patógeno (i.e. ICA Puracé), encontrándose que efectivamente esta última variedad presenta un menor nivel de susceptibilidad a la sarna polvosa (Jaramillo *et al.*, 2003; Jaramillo y Botero, 2007).

En cuanto al control biológico de *Sss*, Gilchrist (2009), evaluó una cepa de *Trichoderma* previamente considerada por Hoyos *et al.* (2002), como potencialmente útil para el control biológico de *Sss* en la variedad Diacol Capiro. Las pruebas fueron realizadas en campo utilizando tres dosis de aplicación del biocontrolador. Se encontró que la aplicación de *T. asperellum* T109 redujo en un 64% y 54% los efectos de la sarna polvosa sobre la longitud de las plantas y su producción, respectivamente. En un trabajo similar, se investigó la influencia de cuatro aislamientos de *T. asperellum* sobre la sarna polvosa en tres tipos de suelo: Andisol, Entisol e Inceptisol. Aunque no se encontraron diferencias significativas en el crecimiento de las plantas y en su producción, sí se encontró que dichas variables estuvieron inversamente asociadas con el contenido de Al^{2+} en los suelos, sugiriendo que los efectos de la sarna polvosa están fuertemente relacionados con las condiciones del suelo (Gilchrist *et al.*, 2009).

Otra investigación tendiente al manejo de *Sss* incluyó la evaluación de mezclas de los biocontroladores potenciales (*Trichoderma harzianum* Rifai, y *Pseudomonas fluorescens* Migula), de un consorcio de micorrizas y de viruta de pino. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el testigo y *P. fluorescens* y los tratamientos con *T. harzianum*, micorrizas y viruta, presentando una incidencia en raíces de 32%, 21% y 5%, 3% y 1% respectivamente. Los tratamientos con *T. harzianum*, micorriza y viruta tuvieron los porcentajes de incidencia más altos, pero contrastaron con niveles muy bajos de severidad de la enfermedad (0,22%; 0,088% y 0,019%, respectivamente). Sin embargo, no se obtuvieron incrementos en peso seco de raíces, peso de tubérculos y peso seco de la parte aérea, cuando se realizaron las inoculaciones de los diferentes agentes de control y de viruta de pino (Restrepo *et al.*, 2009).

Otros estudios incluyen la evaluación del efecto de fungicidas aplicados al suelo para el manejo de *Sss*. Sin embargo, en estos estudios se determinó que

ninguno de los fungicidas evaluados (Tiabendazol, Tolclofos metil, Benomyl, Carbendazín, Clorotalonil y Mancozeb) contribuyeron con el control del patógeno en raíces y tubérculos bajo las dosis y condiciones presentes de tres localidades productoras de papa (Subachoque, Medellín (Corregimiento Santa Elena) y Pasto) (García y Navia, 2002). En contraste, Falloon *et al.* (2010), realizaron aplicaciones en campo del fungicida Mancozeb, el cual contiene Zn y Mn, encontrando que niveles elevados de Zn y Mn, generan infecciones moderadas de *Sss* en las raíces de papa.

Arias (2011), realizó un análisis y comparación de glucosinolatos presentes en diferentes accesiones de cubio (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav.) para evaluar su uso potencial en el control de *Sss*. Se estandarizaron los procedimientos de extracción del compuesto y las diferentes formulaciones fueron probadas como biofumigante en el suelo, donde posteriormente se sembraron tubérculos de papa criolla. Sin embargo, los resultados obtenidos no permitieron establecer un posible potencial biofumigante de estos compuestos a *Sss*.

Detección de *Sss*. La detección del inóculo de *Sss* en el suelo es compleja y es evaluada inicialmente a partir de sistemas de trapeo que utilizan plántulas de tomate (Merz, 1989) o de papa (Wale *et al.*, 1993). Estas evaluaciones son críticas para definir relaciones entre el grado de infestación de los suelos y los niveles de enfermedad observados en el campo, requisito fundamental para la implementación de cualquier medida de control (Merz *et al.*, 2005). Con el objetivo de buscar alternativas para alcanzar mayores rangos de sensibilidad en la detección de *Sss*, se han explorado diversas metodologías basadas en técnicas serológicas y moleculares. Entre las primeras se destacan la generación de anticuerpos policlonales que detectan quistosoros del protozoo bajo un sistema ELISA (Harrison *et al.*, 1993; Walsh *et al.*, 1996). Sin embargo, la utilidad de estos anticuerpos es reducida debido a que no detecta el estado plasmodial (Ward *et al.*, 2004). Merz *et al.* (2005) desarrollaron una prueba para la evaluación rutinaria de la presencia del patógeno basada en el uso de anticuerpos monoclonales derivados de quistosoros como antígenos, alcanzando niveles de sensibilidad de menos de un quistosoro por tubérculo. A partir de esto, se generó recientemente la herramienta de flujo lateral "*Sss* AgriStrip", una prueba cuya precisión y sensibilidad fue evaluada por Boucek-Mechiche *et*

al. (2011) para la detección de *Sss*, en comparación con técnicas de microscopía, ELISA, PCR y qPCR. Se realizaron pruebas en lotes que presentaban lesiones típicas y atípicas causadas por el patógeno, y se confirmó la presencia de *Sss* en todas las lesiones con todos los métodos probados. Se concluyó que el *Sss* AgriStrip es una prueba tan sensible como el DAS-ELISA, con un límite de detección de 1 a 10 quistosoros por mL de buffer y que ofrece la ventaja de no requerir de un laboratorio, al ser realizada bajo condiciones *in situ*.

Con respecto a las metodologías moleculares, se ha utilizado PCR convencional a partir de los cebadores específicos Spo8/Spo9 (Bulman y Marshall, 1998); Sps1/Sps2 (Bell *et al.*, 1999) y SsF/SsR (Qu *et al.*, 2006) que amplifican las regiones ITS del DNA. Los cebadores específicos Spo8/Spo9 diseñados por Bulman y Marshall, (1998), detectan eficientemente a *Sss* y no presentan reacción cruzada con otros plasmodiophoridos como *S. subterranea* f. sp *nasturtii*, *P. brassicae*, *Sorosphaera veronicae* Schroet. y *Polymyxa graminis* L., ni con el actinomicete *S. scabies*, agente causal de la sarna común de la papa.

Bell *et al.* (1999), obtuvieron secuencias parciales del ITS de 391 pb con los cebadores Sps 1/Sps 2 para la detección y cuantificación de *Sss* en la corteza, tubérculos lavados y suelos cultivados con papa. Las pruebas desarrolladas mostraron ser más sensibles que los inmunoensayos previamente reportados y fueron más rápidas y sencillas que los ensayos convencionales con plantas trampa.

Qu *et al.* (2006), utilizaron la técnica de PCR para la identificación específica y cuantificación de *Sss*. Los cebadores SsF/SsR amplificaron un producto de 434 pb proveniente de masas de esporas de *Sss*, pero no se obtuvo el amplicón cuando el DNA era de papa sana, de tubérculos con sarna común o de otros plasmodiophoridos relacionados. Así mismo, se detectó *Sss* en otros hospederos infectados que no presentaban síntomas y se concluyó que la prueba es tan sensible que puede detectar 1 quiste g⁻¹. Adicionalmente, con esta técnica, se logró la cuantificación de *Sss* en el suelo, logrando identificar valores de 1 a 10⁴ quistosoros por 0,25 g de suelo.

La implementación de métodos para la detección de *Sss* ha permitido el desarrollo de procedimientos que permiten una rápida y automatizada extracción de DNA, combinada con PCR en tiempo real utilizando

sondas Taqman® para avanzar en el diagnóstico rutinario de la sarna polvosa (van de Graff *et al.*, 2003; Qu *et al.*, 2011) o PCR competitivo o cuantitativo (Qu *et al.*, 2006; Shah *et al.*, 2009). En esta prueba se utiliza un control interno de DNA de papa (citocromo oxidasa) para hacerla más confiable y evitar falsos negativos. Ward *et al.* (2005), realizaron la validación de dicha metodología a partir de la evaluación de 37 muestras de tubérculos de varios cultivares procedentes de diversas localidades del Reino Unido. La prueba detectó el patógeno en todas las muestras que eran sospechosas, así como en tubérculos que no presentaban quistosoros observables. La prueba con la sonda Taqman® demostró ser 100 veces más sensible que la PCR convencional (Ward *et al.*, 2005) y la ELISA (Ward *et al.*, 2004). Estas pruebas han permitido determinar el efecto del nivel de inóculo en el suelo y de algunos factores ambientales en la infección y desarrollo de agallas en raíces de papa causadas por *Sss* (van de Graaf *et al.*, 2007). En Gran Bretaña, la técnica de PCR en tiempo real permitió detectar confiablemente y establecer la cantidad de DNA de los quistoros, zoosporas y plasmodio/zoosporangios del patógeno; así mismo, se determinó la viabilidad de los quistes en el suelo y en combinación con el uso de plantas trampa, se estudió la liberación de zoosporas y los niveles de infección en papa bajo diferentes condiciones ambientales, permitiendo conocer con más detalle varios aspectos de la epidemiología de la enfermedad (Lees *et al.*, 2008).

Otras variaciones de estas técnicas como la qPCR múltiple utilizando sondas TaqMan®, han permitido la detección y diferenciación simultánea de la sarna polvosa y la sarna común, dos enfermedades del tubérculo que causan síntomas similares pero que son ocasionadas por patógenos diferentes (*Sss* vs *Streptomyces* spp.) (Qu *et al.*, 2011). Finalmente, como una técnica de diagnóstico simultáneo de diferentes patógenos de papa, se ha desarrollado un chip para su análisis en microarreglos, siendo incorporada la detección de *Sss* (Zhang *et al.*, 2008).

En Colombia, la utilización de métodos de detección de *Sss* en tubérculos y suelos, ha estado regida principalmente por la evaluación visual de sintomatologías en raíces y tubérculos, la evaluación de bioensayos (Rodríguez *et al.*, 2002) y la utilización de PCR convencional utilizando cebadores específicos (Jaramillo *et al.*, 2003; Carreño, 2009). Se han utilizado combinaciones de diversos cebadores que

permiten la amplificación de la región ITS del DNAr del patógeno (Spo1/Spo2; Spo8/Spo9 y Sps1/Sps2) los cuales permiten obtener productos de 372, 390 y 391 pb, respectivamente (Saavedra *et al.*, 2004). Ramírez (2010), obtuvo amplificación de los fragmentos del tamaño esperado utilizando los cebadores Spo8/Spo9 y SsF/SsR para analizar la variabilidad genética de aislamientos de *Sss* provenientes de La Unión (Antioquia), encontrando una estructura clonal de los aislamientos evaluados; mientras que Carreño (2009) utilizando análisis de secuencias ITS y SSCP (Polimorfismo Conformacional de Banda Simple), con un alto número de aislamientos de diferentes regiones del país, estableció la presencia de subpoblaciones del patógeno relacionadas con el tipo de órgano afectado.

Variabilidad genética de *Sss*. La disponibilidad de cultivares resistentes a *Sss* debe ser una prioridad en el diseño de futuras estrategias de manejo de la enfermedad. Los mejoradores tratan de incluir resistencia en los nuevos cultivares, seleccionando líneas contra un rango de patógenos que representan la diversidad genética conocida, con el fin de seleccionar la resistencia más durable. Sin embargo, poco es conocido acerca de la variación genética de *Sss* o del papel de la recombinación sexual en su ciclo de vida (Merz y Falloon, 2009). Los estudios genéticos de *Sss* han sido complejos de aplicar debido a razones como las siguientes: obtener y mantener el patógeno es difícil por su naturaleza de parásito obligado; no han existido métodos disponibles para el aislamiento de quistosoros individuales; el desarrollo de la sarna polvosa está fuertemente influenciado por las condiciones ambientales predominantes y los estándares de inoculación, así como los cultivares de referencia no han sido bien establecidos (Qu y Christ, 2006b).

En un trabajo pionero, Würzer (1964), caracterizó 17 colecciones de *Sss* de Europa y América según el tamaño del quistoro, pero no encontró evidencia biológica significativa de este agrupamiento. Posteriormente, en estudios amplificando y secuenciando regiones ITS del DNAr fueron identificados dos agrupaciones de *Sss* en Australia y Europa (tipo I y II) (Bulman y Marshall, 1998). Así mismo, se realizó una investigación sobre la variabilidad genética de 52 aislamientos de islas Británicas y Norteamérica que fueron amplificados por PCR. Se identificaron dos grupos genéticamente diferentes (I y II) que representaron el 34,6% y el 65,4% de los aislamientos, respectivamente. Sin embargo, en Norteamérica, los aislamientos sólo

pertenecían al grupo II (Qu y Christ, 2004). Debido a que el análisis de secuencias de ITS se basa en un solo locus para la detección de la variación genética, los análisis con marcadores moleculares que comprendan diferentes partes del genoma del patógeno son necesarios para obtener una imagen amplia de la variación genética y estructura poblacional de *Sss*.

El uso de marcadores moleculares tales como RAPDs (DNA polimórfico amplificado al azar) y AFLPs (Polimorfismo en la longitud de los fragmentos amplificados), han sido usados para estudiar la diversidad genética en muchos patógenos de plantas; sin embargo, tales marcadores no están disponibles para *Sss*, ya que es complejo obtener estructuras individuales del patógeno, y la única forma es la obtención de quistosoros que pueden traer contaminantes secundarios o contener tejido de la planta. Por lo tanto, es difícil obtener ADN puro del patógeno, un paso indispensable para llevar a cabo la PCR basada en marcadores moleculares (Qu y Christ, 2006b).

En este sentido, Qu y Christ (2006b), realizaron un estudio más detallado de colecciones de quistosoros obtenidas de USA y Canadá, empleando marcadores RFLPs (Polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción). Encontraron variación genética entre las localidades geográficas, pero no entre los individuos de una misma localidad, lo que sugirió que las poblaciones del campo son clones y no estaban sometidas a recombinación sexual. El análisis de agrupamiento, permitió separar los aislamientos en dos grupos: el grupo I que incluyó aislamientos del oeste de Norteamérica (exceptuando aislamientos de Colorado) y el grupo II incluyó aislamientos originarios del este de Norteamérica y de Colorado. Este estudio muestra que el uso de marcadores moleculares para diferenciar aislamientos de quistosoros individuales facilitará investigaciones adicionales para determinar la estructura genética de poblaciones de *Sss*.

En Colombia, Ramírez (2010), realizó un estudio sobre la variabilidad genética de aislamientos de *Sss* de La Unión, Antioquia. Encontró que los análisis de secuencias de la región ITS del ADN_r, presentaron altos niveles de similitud con cepas obtenidas del Departamento de Nariño, así como con secuencias de referencia de cepas del tipo II de *Sss*. Este resultado permitió plantear que el patógeno, presenta un comportamiento clonal, aunque es necesario obtener información de otras regiones del genoma

que permitan realizar análisis de múltiples *loci*, que conduzcan a una mayor aproximación sobre las condiciones de variación de este patógeno en el país. Otro estudio realizado por Carreño (2009) sobre la variabilidad genética de *Sss*, mediante el análisis de las regiones ITS del ADN_r, permitió establecer la presencia de subpoblaciones del patógeno relacionadas con el tipo de órgano afectado. El tipo de ITS I se asocia aparentemente con infecciones de tubérculo y el tipo de ITS II lo hace con infecciones de raíz. Esta investigación permitió descartar la presencia de patotipos o ecotipos de *Sss* en Colombia, puesto que en ninguno de los casos se observó una asociación entre la variación genética y el cultivar hospedero o zona geográfica. Así mismo, se comprobó, que en el país existen variantes genéticas de *Sss*, que difieren de las reportadas en otros países, registrándose la presencia de cinco haplotipos del patógeno.

Generalidades del *Potato mop-top virus* (PMTV)

El PMTV es el agente causal de una importante enfermedad viral del cultivo de la papa, cuya distribución se encuentra registrada en diferentes países productores de este tubérculo, como Irlanda, Inglaterra, Escocia, Republica Checa, Suiza, Noruega, Suecia, Dinamarca y Finlandia (Santala *et al.*, 2010); así como en Japón (Nakayama *et al.*, 2010). En América, ha sido registrado en Canadá y Estados Unidos (Xu *et al.*, 2004). En éste último país se reportó recientemente, en los estados de Washington (Davis *et al.*, 2010) y en North Dakota (Crosslin, 2011). Nuevos reportes de este virus se continúan presentado en otros países del mundo como Polonia (Budziszewska *et al.*, 2010). En América Central se ha encontrado en Costa Rica (Montero-Astúa, 2008) y aunque se considera que es originario de la región de los Andes (Suramérica), sólo fue detectado en Colombia en el año 2007 (Vélez, 2007), con la reconfirmación de su presencia en el año 2010 (Gil *et al.*, 2011).

Taxonomía de PMTV. El PMTV pertenece al género *Pomovirus*, un grupo de virus con morfología de varilla rígida de 18-20 nm en diámetro y tres partículas con longitudes de 290-310 nm, 150-160 nm y 65-80 nm. El género *Pomovirus* deriva su nombre de la especie tipo *Potato mop-top virus* y actualmente se ubica en el la familia Virgaviridae (Adams *et al.*, 2009). Los análisis filogenéticos del gen que codifica para la ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRps) indican que el PMTV está relacionado más estrechamente con el *Beet soil-borne virus* (*Pomovirus*), *Broad bean*

necrosis virus (Pomovirus) y *Soil-borne Wheat mosaic virus (Furovirus)* (Savenkov *et al.* 1999).

El PMTV tiene como genoma tres moléculas de RNAs con tamaños de 6,4 kb, 3 kb y 2,5 kb, con caperuzas hacia el extremo 5' y una estructura tipo ARNt hacia el extremo 3' (Savenkov *et al.* 1999; 2003). El ARN 1 codifica para una proteína que tiene motivos de metiltransferasa y helicasa (ORF 1), así como una proteína generada por supresión del codón de finalización del ORF 1 con motivos de RdRp (Savenkov *et al.*, 1999). Cerca del extremo 3' del ARN 2 se presenta una proteína asociada a la transmisión por el vector y generada a partir de la supresión del codón de terminación del ORF que codifica para CP. Esta proteína parece ser la responsable de la pérdida de la estructura helicoidal en los extremos del ARN durante el proceso de desensamblaje (Sandgren *et al.*, 2001). El ARN 3 codifica para cuatro polipéptidos de 51, 21, 13 y 8 kDa, respectivamente. Las tres primeras proteínas (TGBp1, TGBp2 y TGBp3) están involucradas en el movimiento del virus célula a célula (Zamyatnin *et al.*, 2004). La función de la cuarta proteína, una proteína rica en cisteína, parece ser la de actuar en el incremento de la virulencia; sin embargo, no es indispensable para el proceso infeccioso (Lukhovitskaya *et al.*, 2005).

Transmisión de PMTV. La especie PMTV es transmitida por zoosporas de *Sss* que afecta los sistemas radiculares de sus hospedantes. Este virus también puede ser transmitido por semilla asexual. El PMTV puede permanecer en las estructuras de resistencia de su vector por varios años en el suelo. En los ensayos de transmisión del virus se ha observado que éste es transmitido eficientemente a plantas indicadoras (ej. *Nicotiana tabacum* L. y *N. benthamiana* Domin) a partir de muestras de suelo infestadas con quistes del patógeno (Campbell, 1996; Vélez, 2007). El PMTV constituye un pequeño grupo de virus que para su movimiento sistémico en la planta hospedante no requiere de la expresión de CP, ni de la formación del virión (McGeachy y Barker, 2000), debido a que el TGB le ofrece la posibilidad de mover el RNA infeccioso a través de largas distancias en la planta (Melander *et al.*, 2001). Actualmente, se generan nuevas teorías acerca del movimiento de TGB en la planta, y de la función de cada una de las proteínas TGBp1, TGBp2 y TGBp3 en el movimiento célula a célula de PMTV. Shemyakina *et al.* (2011), analizaron la localización subcelular y el transporte de TGBp1, encontrando que esta proteína se asocia con

los microtúbulos y plasmodesmos, lo cual soporta su función como proteína de movimiento.

El RNA desnudo se puede encontrar en tubérculos asintomáticos y causar una infección secundaria para la siguiente temporada de siembra (McGeachy y Barker, 2000). La manifestación de los síntomas característicos de la enfermedad depende de la presencia de los tres ARN en el tejido (Savenkov *et al.*, 2003).

Rango de hospedantes de PMTV. En condiciones experimentales el virus puede infectar plantas de las familias Chenopodiaceae, Solanaceae y Tetragnoniaceae. Dentro de estas se encuentran las plantas que se usan para su diagnóstico, las cuales corresponden a *Nicotiana debneyi* Domin. y *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn, en las que se produce necrosis sistémica y lesiones locales concéntricas cafés, respectivamente. *N. benthamiana*, *N. debneyi*, *N. clevelandii* A. Gray y *N. tabacum* son las especies más apropiadas para el mantenimiento y propagación del virus bajo condiciones experimentales (Vélez, 2007).

Síntomas inducidos por PMTV. La enfermedad inducida por PMTV presenta una amplia gama de síntomas, dependiendo de la variedad de papa y de las condiciones ambientales, siendo frecuente la presencia de anillos y arcos de colores oscuros sobre la superficie de los tubérculos, mientras que internamente se presentan arcos necrosados, síntomas conocidos en la literatura mundial como "spraing". En infecciones secundarias, los tubérculos pueden mostrar agrietamientos reticulados y profundos. Adicionalmente, los folíolos de las plantas afectadas pueden presentar moteados cloróticos y líneas con formas de V (síntomas tipo "Aucuba"). En la región Andina, la sintomatología en los tubérculos no es frecuente de observar, pudiendo ser igualmente inducidas por cepas necróticas de PVY ó por *Streptomyces* spp. y *R. solani* (Tenorio *et al.*, 2006). A nivel aéreo, el virus también puede inducir amarillamientos, enanismos y acortamiento de entrenudos (Salazar, 1995).

En Escocia, se estudió el efecto de los síntomas foliares causados por PMTV sobre el rendimiento del cultivo y la calidad del tubérculo-semilla. Se encontró que en los tubérculos de plantas asintomáticas, rara vez se observan los síntomas foliares en la siguiente generación, aunque las plantas asintomáticas produjeron más tubérculos

infectados cuando eran derivadas de plantas que presentaron síntomas foliares el año anterior. Por otra parte, el síntoma de "spraing" en los tubérculos tendió a ser mayor en plantas que presentaban síntomas foliares comparados con aquellas asintomáticas. Estos resultados mostraron que la erradicación de plantas con síntomas foliares podría mejorar la fitosanidad del cultivo, pero resultaba impráctica cuando las plantas enfermas eran muy frecuentes (Carnegie *et al.*, 2010). Sin embargo, los síntomas foliares, son raramente observados en variedades cultivadas actualmente en los países nórdicos, con excepción de Noruega. La razón para estas diferencias de la sintomatología de la enfermedad no son comprendidas, pero puede ser que el clima marino más húmedo en Noruega y Escocia afecta la fisiología de la planta de papa e incrementa la infección sistémica por PMTV (Santala *et al.*, 2010).

Detección de PMTV. Para la detección de PMTV, se han utilizado diversas técnicas. Las primeras pruebas, incluyeron bioensayos con plantas indicadoras como *Ch. amaranticolor*, aunque se requiere de alrededor de 14 días para lograr la expresión de síntomas, y en algunas ocasiones, éstos no son completamente confiables (Jeffries, 1998).

Con el desarrollo de las pruebas ELISA, se hizo posible la detección de PMTV en uno a dos días; sin embargo, la generación de falsos negativos debido a la distribución errática del virus en la planta, ha hecho que se cuestione dicha técnica. Arif y Torrance (1996), realizaron estudios de detección por ELISA de PMTV en muestras de tubérculos de tres cultivares de papa, concluyendo que la combinación de tejidos de tubérculos en la muestra incrementa la probabilidad de detección del virus. En Dinamarca, la utilización de la técnica DAS ELISA, tuvo alta confiabilidad para el seguimiento de la presencia de PMTV en 23 cultivares de papa sembrados en campo (Nielsen y Mølgaard, 1997).

La utilización de técnicas basadas en ácidos nucleicos ha llevado al desarrollo de métodos de detección de alta sensibilidad. La RT-PCR es uno de estos métodos de detección más sensible. Arif *et al.* (1994), compararon la confiabilidad de ELISA y RT-PCR en la detección de PMTV de raíces y hojas de plantas trampa de *N. debneyi*. Luego de tres semanas de siembra, la RT-PCR detectó el virus en ambos tejidos, mientras que con ELISA, se obtuvo la detección del virus sólo después de cinco semanas de la siembra.

Adicionalmente, se ha empleado con éxito la detección del PMTV mediante RT-PCR en tiempo real con sondas tipo Taqman®, aumentándose en un nivel de 10000 veces la sensibilidad de la detección con respecto a la técnica de ELISA (Mumford *et al.*, 2000). Otro método basado en microplacas de hibridación-RT-PCR (RT-PCR-MPH), ha sido recientemente desarrollado en Japón para la detección de PMTV por Nakayama *et al.* (2010). El diagnóstico en muestras de suelo de Japón utilizando esta técnica, determinó que el 61.2% de los lotes muestreados estaban infectados con PMTV. La hibridación específica basada en amplificación con cebadores con marcadores fluorescentes (Flash-PCR) también ha sido una técnica basada en PCR que ha permitido la detección rápida y precisa de diferentes virus de la papa como el PMTV (Ryazantsev y Zavriev, 2009). De otro lado, los microarreglos con sondas específicas para virus, pueden detectar un número casi ilimitado de especies de virus en un solo ensayo. Nicolaisen (2011), realizó un estudio de microarreglos con la utilización de 152 sondas potencialmente capaces de detectar 52 virus en papa (incluyendo PMTV). Las hibridaciones del ADNc de plantas infectadas, mostraron que 49 de los 52 virus fueron positivos e identificados correctamente a nivel de especie; demostrando que esta técnica puede contribuir a la construcción de microarreglos genéricos capaces de detectar en forma simultánea gran diversidad de virus de plantas.

En Colombia, la detección de PMTV fue reportada por primera vez por Vélez (2007). Los ensayos de RT-PCR permitieron determinar que el 81% de los suelos muestreados en el estudio presentaron infección por PMTV. Este método utilizando los cebadores H360/C819, fue más sensible para la detección de PMTV que la observación de síntomas en plantas indicadoras.

Gil (2010), realizó la evaluación de la presencia del virus PMTV a partir de plantas de *N. benthamiana* inoculadas con quistosoros de *Sss* mediante pruebas de detección serológica y molecular. Un total de 18 muestras de raíces infectadas con *Sss* fueron evaluadas, encontrándose que cinco muestras de Antioquia y una de Boyacá, Cundinamarca y Nariño arrojaron resultados positivos en las pruebas de ELISA. Al comparar estos resultados con los obtenidos con qRT-PCR, se encontró que esta prueba determinó la presencia del virus en el 45% de las muestras analizadas, mientras que mediante ELISA y RT-PCR convencional se diagnosticaron 25 y 28% de las muestras como positivas. Al observar individualmente

la capacidad de las pruebas para detectar PMTV, resultó llamativo el hecho que algunas muestras fueran positivas para dos de las tres pruebas, e incluso se presentaron casos en los que la prueba de ELISA detectó el virus pero no las pruebas basadas en RT-PCR, lo cual sugirió problemas con la inhibición de las reacciones enzimáticas o con los cebadores empleados.

Variabilidad genética de PMTV. A nivel mundial, se han desarrollado investigaciones que reportan la presencia de bajos niveles de variación entre genotipos de PMTV. Latvala-Kilby *et al.* (2009), caracterizaron el gen de la cápside viral (CP) y un dominio de lectura continua del ARN 2, así como el gen 8K y la región no traducida 3' del ARN 3 (UTR), de 37 aislamientos de Finlandia y Letonia. En este estudio fueron encontrados dos tipos diferenciables de ARN 2 y ARN 3. La secuenciación y los análisis de RFLP de los productos de PCR de dichas regiones, indicaron que la mayoría de los aislamientos de PMTV que infectaron tubérculos en estos países europeos, comprenden los restringido-tipos ARN 2-II y ARN 3-B.

En estudios previos, en los cuales las secuencias CP de tres aislamientos de Escocia y ocho de Perú fueron analizadas por Mayo *et al.* (1996), las cepas bajo análisis mostraron poca variabilidad. De forma similar, las secuencias CP de seis aislamientos de Norteamérica presentaron una identidad mayor al 97% con respecto a algunas secuencias de aislamientos de PMTV de Europa (Xu *et al.*, 2004). En Dinamarca, se reportó la presencia de dos grupos de PMTV con base en análisis de las secuencias de CP, encontrando que éstos comparten 98% de identidad, pero con posibles diferencias en la reproducción de síntomas en plantas indicadoras (Nielsen y Nicolaisen, 2003). Al parecer, la variabilidad genética de los genes de CP en aislamientos de PMTV del norte de Europa y Norteamérica es limitada y permite la detección confiable del virus con los anticuerpos monoclonales y los cebadores para RT-PCR usados actualmente (Santala *et al.*, 2010).

En Colombia, Vélez (2007), encontró por lo menos dos genotipos de PMTV definidos a partir de la secuencias del gen CP: un grupo con alta identidad con aislamientos de Europa y Canadá, y otro grupo constituido exclusivamente por aislamientos colombianos. Una situación similar encontraron Gil *et al.* (2011), con aislamientos colombianos de PMTV, que presentaron una estructura poblacional con bajos niveles de variabilidad, pero con algunas variantes

divergentes con respecto a los genotipos de referencia mundial. Dichas variantes presentaron diferencias en sus secuencias de CP hasta del 24% con respecto al grupo principal, por lo que los autores plantearon que posiblemente se trate de otra especie de pomovirus, hasta ahora no registrada en el mundo.

CONCLUSIONES

La sarna polvosa de la papa, causada por *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* (*Sss*) es una enfermedad reemergente en diferentes países del mundo, debido a los sistemas de monocultivo, la ausencia de variedades con resistencia al patógeno y las deficiencias en los programas de certificación de tubérculo semilla, que facilita su rápida dispersión a nuevas zonas de cultivo. En Colombia esta enfermedad reviste gran importancia en la actualidad, no sólo por el efecto cosmético que causa en los tubérculos, sino también por la reducción en la producción de los cultivos, como resultado del daño generalizado que induce el patógeno sobre el sistema radicular de las plantas.

Análisis de secuencias ribosomales han demostrado que las poblaciones Colombianas de *Sss* presentan una estructura genética más diversa que la presente en otras regiones del mundo. Es necesario evaluar el significado biológico de estas variantes de *Sss* bajo las condiciones agroecológicas de las regiones cultivadoras de papa en Colombia, así como su epidemiología y capacidad para la transmisión de PMTV.

Resultados encontrados en diferentes investigaciones, permiten plantear que el caso de PMTV en Colombia es aparentemente singular, dada la presencia de dos variantes genéticas de este virus, una de las cuales no ha sido registrada en otros lugares del mundo. Es necesario estudiar el efecto de ambos genotipos virales sobre la producción y calidad del tubérculo semilla de papa en Colombia, así como generar tecnologías para la detección de PMTV en los programas de certificación de semilla y de mejoramiento genético de papa que se adelantan en el país.

AGRADECIMIENTOS

Esta revisión se realizó en el marco del proyecto 090-2007S4527-87-08, financiado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y la Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín.

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, M.J., J.F. Antoniw and J. Kreuze. 2009. Virgaviridae: a new family of rod-shaped plant viruses. *Archives of Virology* 154(12): 1967-1972.
- Andersen, A.B., M. Nicolaisen and S.L. Nielsen. 2002. Alternative hosts for *Potato mop-top virus*, genus *Pomovirus*, and its vector *Spongospora subterranea*. *Potato Research* 45(1): 37-43.
- Arcila, I., J. Ochoa, C. Zuluaga y E.P. González. 2011. Inoculación de especies cultivables para la identificación de hospederos de *Spongospora subterranea* fsp *subterranea*. En: XXX Congreso Colombiano y XVI Latinoamericano de Fitopatología. Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines - ASCOLFI, Bogotá, Colombia.
- Arias, M.M. 2011. Análisis y comparación de los glucosinolatos presentes en diferentes acepciones de cubio (*Tropaeolum tuberosum*) para evaluar su uso potencial en el control del patógeno de la papa *Spongospora subterranea*. Tesis Magister en Ciencias Químicas. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 104 p.
- Arif, M., L. Torrance and B. Reavy. 1994. Improved efficiency of detection of *Potato mop-top furovirus* in potato tubers and in the roots and leaves of soil-bait plants. *Potato Research* 37(4): 373-381.
- Arif, M. and L. Torrance. 1996. Detection of *Potato mop-top virus* in potato tubers. In: Proceedings Crop Protection in Northern Britain. Dundee, UK. pp. 325-330.
- Bell, K.S., J. Roberts, S. Verral, D.W. Cullen, N.A. Williams and J.G. Harrison. 1999. Detection and quantification of *Spongospora subterranea* f.sp. *subterranea* in soils and on tubers using specific primers PCR primers. *European Journal of Plant Pathology* 105(9): 905-915.
- Benavides, J.A. 2006. Incidencia y severidad de la roña de la papa causada por *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh. f. sp. *subterranea* Tomlinson en raíces y tubérculos de Diacol Capiro y Parda Pastusa en tres épocas de siembra en el departamento de Nariño y su efecto en los rendimientos. Tesis Magister en Ciencias Agrarias. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 115 p.
- Bouchek-Mechiche, K., F. Montfort and U. Merz. 2011. Evaluation of the *Sss* AgriStrip rapid diagnostic test for the detection of *Spongospora subterranea* on potato tubers. *European Journal of Plant Pathology* 131(2): 277-287.
- Budziszewska, M., P. Wieczorek, K. Nowaczyk, N. Borodynko, H. Pospieszny and A. Obręplaska-Stęplowska. 2010. First report of *Potato mop-top virus* on potato in Poland. *Plant Disease* 94(7): 920.
- Bulman, S.R. and J.W. Marshall. 1998. Detection of *Spongospora subterranea* in potato tuber lesions using the polymerase chain reaction (PCR). *Plant Pathology* 47(6): 759-766.
- Campell, R.N. 1996. Fungal transmission of plant viruses. *Annual Review of Phytopathology* 34:87-108.
- Carnegie, S.F., A.M. Cameron and M. McCreath. 2010. Foliar symptoms caused by *Potato mop-top virus* on potato plants during vegetative propagation in Scotland and their association with tuber yield, spraing and tuber infection. *Potato Research* 53(2): 83-93.
- Carreño, A.J. 2009. Evaluación de la variabilidad genética de *Spongospora subterranea* f.sp. *subterranea* mediante la comparación de regiones ITS del ADN ribosomal de cepas procedentes de las regiones productoras de papa en Colombia. Tesis Magister en Ciencias Agrarias. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 104 p.
- Cotes, J., S. Jaramillo y L. González. 2006. Evaluación de la incidencia de sarna polvosa en tres variedades de papas colombianas. p. 0-7. En: Memorias. Congreso Internacional de Papa John S. Niederhauser, Toluca, México.
- Crosslin, J.M. 2011. First report of *Potato mop-top virus* on potatoes in Washington State. *Plant Disease* 95(11):1483.
- Davis, N., I. Mallik, J.M. Crosslin and N.C. Gudmestad. 2010. First report of *Potato mop-top virus* in North Dakota. *Plant Disease* 94 (12): 1506.
- Dick, M.W. 2001. Straminipilous fungi: systematic of the Peronosporomycetes including accounts of the marine straminipilous protist, the plasmodiophorids and similar organisms. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holland. 660 p.

- Falloon, R.E., A.G. Russell, A.R. Wallace and R.C. Butler. 2003. Susceptibility of potato (*Solanum tuberosum*) cultivars to powdery scab (caused by *Spongospora subterranea*), and relationships between tuber and root infection. *Australasian Plant Pathology* 32(3):377-385.
- Falloon, R.E., D. Curtin, R.A. Lister and R.C. Butler. 2005. Root function and growth of potato plants reduced by *Spongospora subterranea* infection. *American Journal Potato Research* 82 (1): 68.
- Falloon, R.E., D. Curtin, R.A. Lister, R.C. Butler and C.L. Scott. 2010. Elevated zinc and manganese levels give moderate reductions in *Spongospora subterranea* infection of potato roots. p. 46. In: *Proceedings. 6th Australasian Soilborne Diseases Symposium*. Twin Waters, Queensland, Australia.
- García, C. y E. Navia. 2002. Evaluación de estrategias de manejo de la roña polvosa (*Spongospora subterranea*) en las tres regiones más productoras de papa en Colombia, <http://www.redepapa.org/practicasculturalesred3.html>; consulta: enero de 2011.
- Gil, J.F. 2010. Diagnóstico y caracterización molecular de virus asociados al cultivo de la papa en Colombia, con énfasis en el virus mop-top (PMTV, Pomovirus). Tesis Magister en Ciencias – Biotecnología. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín. 228 p.
- Gil, J.F., P.A. Gutiérrez, J.M. Cotes, E.P. González y M. Marín. 2011. Caracterización genotípica de aislamientos colombianos del *Potato mop-top virus* (PMTV, *Pomovirus*). *Actualidades Biológicas* 33(94): 69-84.
- Gilchrist, R.E. 2009. Alternativas para el manejo integrado de la sarna polvosa de la papa. (*Spongospora subterranea* f.sp. *subterranea*). Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia. Medellín. cd-rom.
- Gilchrist, E., S. Jaramillo y S. Reynaldi. 2009. Efecto sobre la sarna polvosa de cuatro aislamientos del hongo *Trichoderma asperellum* en tres tipos de suelo. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 62(1): 4783-4792.
- Gilchrist, E., J. Soler, U. Merz and S. Reynaldi. 2011. Powdery scab effect on the potato *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* growth and yield. *Tropical Plant Pathology* 36(6): 350-355.
- Guerrero, O. 1997. Reconocimiento del hongo *Spongospora subterranea* causante de la roña de la papa en el Departamento de Nariño. En: Fedepapa (ed.). *Curso de Manejo Sanitario del Cultivo de la Papa*. Pasto, Colombia. p. 25.
- Guerrero, O. 2000. La roña o sarna polvosa en el Departamento de Nariño. pp. 127-129. En: Fedepapa (eds.). *Papas colombianas con el mejor entorno ambiental*. Segunda edición. Bogotá, Colombia.
- Harrison, J.G., E.A. Rees, H. Barker and R. Lowe. 1993. Detection of spore balls of *Spongospora subterranea* on potato tuber by enzyme-linked immunosorbent assay. *Plant Pathology* 42(2): 181-186.
- Harrison, J.G., R.J. Searle and N.A. Williams. 1997. Powdery scab disease of potato-a review. *Plant Pathology* 46(1):1-25.
- Hoyos, L., J.C. Pérez, S. Jaramillo, S. Orduz y C. Ñustez. 2002. Evaluación del efecto de *Trichoderma* spp. sobre *Spongospora subterranea* en papa variedad Diacol Capiro bajo condiciones de invernadero. Subproyecto 4 de evaluación de las estrategias de manejo de la roña polvosa (*Spongospora subterranea*) en las tres regiones más productoras de papa en Colombia. En: www.cevipapa.org.co; consulta: Diciembre 2010.
- Hoyos, L., O.M. Villegas y E.P. González. 2009. Observaciones histológicas de estructuras celulares asociadas a *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* en papa. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 62(2): 5039-5045.
- Jaramillo, S., H. Calderón, C. Narváez, A. Machuca, L. Afanador, L. Hincapié y G. Correa. 2003. Caracterización de la variabilidad patogénica y molecular de *Spongospora subterranea*. Informe final fase 2. Convenio Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín y CEVIPAPA, Medellín. 80 p.
- Jaramillo, S. y J.M. Botero. 2007. Respuesta de diferentes poblaciones de *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* a la rotación entre dos cultivares de papa (*Solanum tuberosum* ssp. *andigena*). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 60(2): 3859-3876.

- Jeffries, C.J. 1998. Potato FAO/IPGRI. Technical guidelines for the safe movement of germplasm. 19: 62-63.
- Jones, R.A. and B.D. Harrison. 1969. The behaviour of *Potato mop-top virus* in soil, and evidence for its transmission by *Spongospora subterranea* (Wall.) Lagerh. *Annals Applied Biology* 63(1): 1-17.
- Jones, R.A. and B.D. Harrison. 1972. Ecological studies on *Potato mop-top virus* in Scotland. *Annals Applied Biology* 71(1): 47-57.
- Latvala-Kilby, S., J.M. Aura, N. Pupola, A. Hannukkala and J.P.T. Valkonen. 2009. Detection of *Potato mop-top virus* in potato tubers and sprouts: combinations of RNA2 and RNA3 variants and incidence of symptomless infections. *Phytopathology* 99(5):519-531.
- Lees, A.K. 2000. Summary of the session on past and present research on powdery scab. Past and present research: Powdery SCAB. pp. 55-57. In: Proceedings of the First European Powdery Scab Workshop. Aberdeen, Escocia.
- Lees, A.K., P. van de Graaf and S. Wale. 2008. The identification and detection of *Spongospora subterranea* and factors affecting infection and disease. *American Journal Potato Research* 85(2): 247-252.
- Lukhovitskaya, N.I., N.E. Yelina, A.A. Zamyathin, M.V. Schepetilnikov, A.G. Solovyev, M. Sandgren, S.Y. Morozov. J.P. Valkonen and E.I. Savenkov. 2005. Expression, localization and effects on virulence of the cysteine-rich 8 kDa protein of *Potato mop-top virus*. *Journal of General Virology* 86(10): 2879-2889.
- Lyman, G.R. and J.T. Rogers. 1915. The native habitat of *Spongospora subterranea*. *Science* 42(1096): 940-942.
- Mayo, M.A., L. Torrance, G. Cowan, C.A. Jolly, S.M. Macintosh, R. Orrego, C. Barrera and L.F. Salazar. 1996. Conservation of coat protein sequence among isolates of *Potato mop-top virus* from Scotland and Peru. *Archives of Virology* 141(6): 1115-1121.
- McGeachy, K.D. and H. Barker. 2000. *Potato mop-top virus* RNA can move long distance in the absence of coat protein: evidence from resistant, transgenic plants. *Molecular Plant Microbe Interactions* 13(1): 125-128.
- Melander, M., M. Lee and M. Sandgren. 2001. Reduction in *Potato mop-top virus* accumulation and incidence in tubers of potato transformed with a modified triple gene block gene of PMTV. *Molecular Breeding* 8(3):197-206.
- Merz, U. 1989. Infectivity, inoculum density and germination of *Spongospora subterranea* resting spores: a solution culture test system. *Bulletin OEPP* 19(3): 585-592.
- Merz, U. 2000. Powdery scab. Research in Switzerland. Past and present research: Powdery SCAB. pp. 67-71. En: Proceedings of the First European Powdery Scab Workshop. Escocia.
- Merz, U. 2008. Powdery scab of potato -occurrence, life cycle and epidemiology. *American Journal of Potato Research* 85(4): 241-246.
- Merz, U., V. Martínez and R. Schwärzel. 2004. The potencial for the rapid screening of potato cultivars (*Solanum tuberosum*) for resistance to powdery scab (*Spongospora subterranea*) using a laboratory bioassay. *European Journal Plant Pathology* 110(1): 71-77.
- Merz, U., J.A. Walsh, K. Bouček-Mechiche, T.H. Oberhänsli and W. Bitterlin. 2005. Improved immunological detection of *Spongospora subterranea*. *European Journal Plant Pathology* 111(4): 371-379.
- Merz, U. and R.E. Falloon. 2009. Review: Powdery scab of potato-increased knowledge of pathogen biology and disease epidemiology for effective disease management. *Potato Research* 52(1): 17-37.
- Merz, U., A.K. Lees, L. Sullivan, R. Schwärzel, T. Hebeisen, H.G. Kirk, K. Bouček-Mechiche and H.R. Hofferbert. 2012. Powdery scab resistance in *Solanum tuberosum* an assessment of cultivar x environmental effect. *Plant Pathology* 61(1): 29-62.
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) República de Colombia. 2005. La cadena de la papa en Colombia. Una mirada a su estructura y dinámica 1991-2005. Documento de trabajo No. 54. En: http://www.agronet.gov.co/www/docs_agronet/2005112163731_caracterizacion_papa.pdf; consulta: enero de 2011.
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR). República de Colombia. 2006. Observatorio agro cadenas

- Colombia. Documento de trabajo No. 100. La cadena de la papa en Colombia. Una mirada global de su estructura y dinámica 1991 - 2005. En: <http://www.agrocadenas.gov.co>; consulta: diciembre 2010.
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR). República de Colombia. 2009. Anuario estadístico del sector agropecuario y pesquero. En: <http://www.agronet.gov.co/www/htm3b/public/anuario/anuario.pdf>. 296 p.; consulta: diciembre 2010.
- Montero-Astua, M., V. Vasquéz, W.W. Turechek, U. Merz and C. Rivera. 2008. Incidence, distribution, and association of *Spongospora subterranea* and *Potato mop-top virus* in Costa Rica. *Plant Disease* 92(8):1171-1176.
- Mumford, R.A., K. Walsh, I. Barker and N. Boonham. 2000. Detection of *Potato mop-top virus* and *Tobacco ettle virus* using a multiplex real-time fluorescent reverse transcription polymerase chain reaction assay. *Phytopathology* 90(5):448-453.
- Murakami, H.S. Tsushima, T. Akimoto, K. Murakami, I. Goto and Y. Shishido. 2000. Effects of growing leafy daikon (*Raphanus sativus*) on populations of *Plasmidiophora brassicae* (clubroot). *Plant Pathology* 49(5):584-589.
- Nakayama, T., T. Maoka, T. Hataya, S. Motoshige, S. Fuwa and M. Mori. 2010. Diagnosis of *Potato mop-top virus* in soil using bait plant bioassay and RT-PCR-microplate hybridization. *American Journal Potato Research* 87(2): 218-285.
- Nicolaisen, M. 2011. An oligonucleotide-based microarray for detection of plant RNA viruses. *Journal of Virological Methods* 173(1): 137-143.
- Nielsen, S.L. and J.P. Mølgaard. 1997. Incidence, appearance and development of *Potato mop-top furovirus*-induced sprain in potato cultivars and the influence on yield, distribution in Denmark and detection of the virus in tubers by ELISA. *Potato Research* 40(1): 101-110.
- Nielsen, S. and M. Nicolaisen. 2003. Identification of two nucleotide sequence sub-groups within *Potato mop-top virus*. *Archives of Virology* 148(2): 381-388.
- Nitzan, N., R. Boydston, D. Batchelor, J. Crosslin and C. Brown. 2009. Hairy nightshade is an alternative host of *Spongospora subterranea*, the potato powdery scab pathogen. *American Journal Potato Research* 86(4): 297-303.
- Nitzan, N., K. Haynes, J. Miller, D. Johnson, T. Cummings, D. Batchelor, C. Olsen and C. Brown. 2010. Genetic stability in potato germoplasm for resistance to root galling caused by the pathogen *Spongospora subterranea*. *American Journal of Potato Research* 87(6): 497-501.
- Qu, X.S. and B.J. Christ. 2004. Genetic variation and phylogeny of *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* based on ribosomal DNA sequence analysis. *American Journal Potato Research* 81(6):385-394.
- Qu, X.S. and B.J. Christ. 2006a. The host range of *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* in the United States. *American Journal Potato Research* 83(4): 343-347.
- Qu, X.S. and B.J. Christ. 2006b. Single cystosorus isolate production and restriction fragment length polymorphism characterization of the obligate biotroph *Spongospora subterranea* f.sp. *subterranea*. *Phytopathology* 96(10): 1157-1163.
- Qu, X.S., J.A. Kavanagh, D. Egan and B.J. Christ. 2006. Detection and quantification of *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* by PCR in host tissue and naturally infested soils. *American Journal of Potato Research* 83(1):21-30.
- Qu, X.S., L.A. Wanner and B.J. Christ. 2011. Multiplex real-time PCR (TaqMan) assay for the simultaneous detection and discrimination of potato powdery and common scab diseases and pathogens. *Journal of Applied Microbiology* 110(3): 769-777.
- Ramírez, G. 2010. Variabilidad genética de *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* en suelos del municipio de La Unión cultivados con la colección central colombiana de *Solanum phureja*. Tesis de Pregrado. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín.
- Restrepo, A.F., S. Jaramillo y J.M. Cotes. 2009. Efecto de dos microorganismos y un consorcio de micorrizas en combinación con viruta de pino sobre el control de sarna polvosa (*Spongospora subterranea*) en papa. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 62(2): 5047-5054.

- Rodríguez, K., Y. Maldonado, L. Murcia, W. Huertas, M. Vásquez, A. Zambrano, R. Rivero y C. García. 2002. Evaluación de protocolos para la detección de patógenos del suelo en Papa (*Rhizoctonia*, *Rosellinia* y *Spongospora*). Producción, incidencia de la sarna polvorienta y calidad de clones avanzados de papa. En: <http://www.todopapa.com.ar/pdf/protocolos.pdf>; consulta: enero 2011.
- Ryazantsev, D. and S.K. Zavriev. 2009. An efficient diagnostic method for the identification of potato plant pathogens. *Applied Molecular Biology* 43(3): 515-523.
- Saavedra, C.O., S.T. Gómez y J.E. Ángel. 2004. Detección de secuencias específicas de ADN de *Spongospora subterranea* en suelo y tubérculos de papa. *Revista Colombiana de Biotecnología* 7(1): 14-23.
- Salazar, L.F. 1995. Los virus de la papa y su control. Centro Internacional de la Papa CIP, Perú. 226 p.
- Salazar L.F. 2006. Emerging and re-emerging potato diseases in the Andes. *Potato Research* 49(1): 43-47.
- Sandgren, M., E. Savenkov and J.P. Valkonen. 2001. The readthrough region of *Potato mop-top virus* (PMTV) coat protein encoding RNA, the second largest RNA of PMTV genome, undergoes structural changes in naturally infected and experimentally inoculated plants. *Archives of Virology* 146(3): 467-477.
- Santala J., O. Samuilova, A. Hannukkala, S. Latvala, H. Kortemaa, U. Beuch, A. Kvarnheden, P. Persson, K. Topp, K. Ørstad, C. Spetz, S.L. Nielsen, H.G. Kirk, M. Budziszewska, P. Wiczorek, A. Obrepalska-Stęplowska, H. Pospieszny, A. Kryszczuk, J. Sztangret-Wiśniewska, Z. Yin, M. Chrzanowska, E. Zimnoch-Guzowska, E. Jackeviciene, L. Taluntytė, N. Pūpola, J. Mihailova, I. Lielmane, L. Järvekülg, K. Kotkas, E. Rogozina, A. Sozonov, I. Tikhonovich, P. Horn, I. Broer, S. Kuusiene, J. Staniulis, J.G. Uth, G. Adam and J.P. Valkonen. 2010. Detection, distribution and control of *Potato mop-top virus*, a soil-borne virus, in northern Europe. *Annals of Applied Biology* 157 (1): 163-178.
- Savenkov, E.I., M. Sandgren and J.P. Valkonen. 1999. Complete sequence of RNA 1 and the presence of tRNA-like structures in all RNAs of *Potato mop-top virus*, genus *Pomovirus*. *Journal of General Virology* 80(10): 2779-2784.
- Savenkov, E.I., A. Germundsson, A.A. Zamyathin, M. Sandgren and J.P. Valkonen. 2003. *Potato mop-top virus*: The coat protein-encoding RNA and the gene for cysteine-rich protein are dispensable for systemic virus movement in *Nicotiana benthamiana*. *Journal of General Virology* 84(4):1001-1005.
- Shah, F.A., R.E. Falloon, R.A. Lister, R.C. Butler, A. McKay, K. Ophel-Keller and I. Khan. 2009. Relationships between *Spongospora subterranea* DNA in field soil and powdery scab in harvested potatoes. 17th Australasian Plant Pathology Society Conference (APPS) Newcastle, Horticulture Australia, N.S.W. 27 p.
- Shah, F.A., R.E. Falloon and S.R. Bulman. 2010. Nightshade weeds (*Solanum* spp.) confirmed as hosts of the potato pathogens *Meloidogyne falax* and *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea*. *Australasian Plant Pathology* 39(6): 492-498.
- Shemyakina, E.A., A.G. Sclovyev, O.G. Leonova, V.I. Popenko, J. Schiemann and S.Y. Morozov. 2011. The role of microtubule association in plasmodesmal targeting of *Potato mop-top virus* movement protein TGBp1. *The Open Virology Journal* 5(1): 1-11.
- Sistema Nacional de Información de Papa (SINAIPA). 2002. La roña de la papa: p 8-9. El Correo de la Papa. Boletín mensual No. 07, Colombia. En: www.cevipapa.org.co/publicaciones/publicaciones.php; consulta: diciembre 2010.
- Tenorio, J., Y. Franco, C. Chuquillanqui, R.A. Owens and L.F. Salazar. 2006. Reaction of potato varieties to *Potato mop-top virus* infection in the Andes. *American Journal Potato Research* 83(5): 423-31.
- Torres, H., M.A. Pacheco and E.R. French. 1995. Resistance of potato to powdery scab (*Spongospora subterranea*) under Andean field conditions. *American Potato Journal* 10(6): 355-363.
- van de Graff, P.V., A.K. Lees, D.W. Cullen and J.M. Duncan. 2003. Detection and quantification of *Spongospora subterranea* soil, water and tissue samples using real-time PCR. *European Journal of Plant Pathology* 109(6): 589-597.
- van De Graff, P., S.J. Wale and A.K. Lees. 2007. Factors affecting the incidence and severity of *Spongospora subterranea* infection and galling in potato roots. *Plant Pathology* 56(6): 1005-1013.

- Vélez B. 2007. Detección e identificación del *Potato mop-top virus* (PMTV) en áreas de producción de papa donde se encuentra *Spongospora subterranea* en dos departamentos de Colombia. Tesis Magister en Ciencias Agrarias. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 115 p.
- Villareal, H.J., P.D. Porras, A. Santa, J. Lagoeyte y D. Muñoz. 2007. Costos de producción de papa en las principales zonas productoras de Colombia. Federación Colombiana de Productores de Papa. FEDEPAPA. En: <http://www.fedepapa.org.co/files/estadistica/estudio.pdf>; consulta: abril-2010.
- Wale, S.J., P.J. Burgess and F. Burnett. 1993. Bioassay for *Spongospora subterranea* detection in soil and its potential use in predicting scab in the field. In: Abstracts of the 6th International Congress of Plant Pathology, Montreal, Canada. p. 281.
- Walsh, J.A., U. Merz and J.G. Harrison. 1996. Serological detection of spore balls of *Spongospora subterranea* using monoclonal antibodies. *Plant Pathology* 44(3): 335-365.
- Ward, E., K. Kanyuka, J. Motteram, D. Korniyukhin and M.J. Adams. 2004. The use of conventional and quantitative real-time PCR assays for *Polymyxa graminis* to examine host plant resistance, inoculum levels and intraspecific variation. *New Phytologist* 165(3): 875-85.
- Ward, L.I., P.A. Beales, A.V. Barnes and C.R. Lane. 2005. A Real-time PCR assay based method for routine diagnosis of *Spongospora subterranea* on potato tubers. *Journal Phytopathology* 152(11-12): 633-638.
- Würzler, B. 1964. Ergänzende Untersuchungen über den Pulverschorf der Kartoffel und dessen Erreger *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh. diss. Landwirtschaftliche Hochschule, Hohenheim, Germany. 104 p.
- Xu H., T.L. Dehaan and S.H. De Boer. 2004. Detection and confirmation of *Potato mop-top virus* in potatoes produced in the United States and Canada. *Plant Disease* 88(4): 363-367.
- Zamyatnin, A.A., A.G. Solovyev, E.I. Savenkov, A. Germundsson, M. Sandgren, J.P. Valkonen and S.Y. Morozov. 2004. Transient coexpression of individual genes encoded by the triple gene block of *Potato mop-top virus* reveals requirements for TGBp1 trafficking. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 17(8): 921-930.
- Zhang, N. M.L. McCarthy and C.D. Smart. 2008. A macroarray system for the detection of fungal and oomycete pathogens of solanaceous crops. *Plant Disease* 92(6): 953-960.