

Ensayos

Evaluación de híbridos F₁ de pimiento frente al virus Y de la Papa (PVY).

Resumen

El presente trabajo se realizó en el Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova" donde un grupo de híbridos F₁ fue probado para la resistencia frente al virus Y de la Papa (PVY). Las semillas de los materiales se sembraron en cepellones, compuesto de materia orgánica. Para determinar la resistencia, las plántulas se inocularon artificialmente cuando tenían la primera hoja verdadera según la metodología de Pochard y Palloix (1990). En este estudio se utilizaron 34 híbridos cubanos que fueron probados frente a la cepa Son 41 del Virus Y de la Papa (PVY1-2); además se utilizaron cuatro híbridos cubanos frente al aislado de PVY obtenido en la Estación Experimental de Papa y Fibra. En todos los casos se usaron testigos resistentes y susceptibles. Se observó en las inoculaciones con el aislado PVY (1-2) la presencia de necrosis y mosaico. Se evaluó el número de plantas enfermas y número total de plantas y en la evaluación con el aislado de la papa se presentó poca reacción de la planta frente a él.

Abstract

This research was carried out in the Liliana Dimitrova Horticultural Research Institute. A group of F₁ hybrids were tested for resistance to the Y Potato virus (PVY). The seeds of the materials were sown in root ball, composed of organic matter. To determine resistance, the seedlings were artificially inoculated when they had the first true leaf, following the methodology developed by Pochard and Palloix (1990). This study used 34 Cuban hybrids which were tested against the strain. There were 41 strains of the Y potato virus (PVY1-2); furthermore, four Cuban hybrids were used on a PVY isolate obtained from the Potato and Fibre Experimental Station. In all cases, resistant and susceptible control groups were used. The presence of necrosis and mosaic was noticed in inoculations with the PVY (1-2) isolate. The number of sick plants and the total number of plants were evaluated; in the evaluation with the potato isolate, the plant showed little reaction to it.

Abstrait

Ce travail a été réalisé à l'Institut de Recherches Horticoles « Liliana Dimitrova » où un groupe d'hybrides F₁ a été testé pour sa résistance face au virus Y de la pomme de terre (PVY). Les graines des matières ont été semées dans une motte avec des composés de matière organique. Pour déterminer la résistance, les plântules ont été inoculées artificiellement dès l'apparition de la première vraie feuille d'après la méthodologie de Pochard et Palloix (1990). Dans cette étude, on a utilisé 34 hybrides cubains qui ont été testés devant le tronçon, ils sont 41 du Virus Y de Pomme (PVY1-2); en plus on a utilisé quatre hybrides cubains sur l'hybride isolé de PVY obtenu à la Station Expérimentale de la Pomme de Terre et de la Fibre. Dans tous les cas, on a utilisé des témoins résistants et susceptibles. Il a été observé dans les inoculations avec le PVY isolé (1-2) la présence de la nécrose et de la mosaïque. On a évalué le nombre de plantes malades et le nombre total de plantes, et dans l'évaluation avec un isolé de la pomme de terre, on a observé une petite réaction de la plante.

Palabras claves: Híbridos F₁, pimiento, virus Y de la Papa (PVY), resistente, cepellones, cepa, susceptibles, necrosis, mosaico.

Introducción

El pimiento *Capsicum annum* L. se ve afectado por un gran grupo de enfermedades virales causadas por Potyvirus; este grupo es muy importante y diverso. Dentro del grupo el Virus Y de la Papa (PVY) transmitido por áfidos en forma no persistente se encuentra en todas las regiones del mundo productoras de pimiento siendo una de las enfermedades más importantes en el cultivo.

Los primeros reportes sobre este virus datan de los años 40 en Puerto Rico; en el área del mediterráneo fue descrito sobre pimiento en 1960 (Nitzany y Tanne, 1962). Los aislados de PVY procedentes de diferentes plantas y países del mediterráneo fueron clasificados en tres patotipos PVY-0; PVY-1; PVY 1,2

* Yaritza Rodríguez Llanes
Tomás Depestre Manso
María R. Vázquez Camero

* Instituto de Investigaciones Hortícolas
"Liliana Dimitrova", La Habana, Cuba.

en Francia (Marcos et al., 1974; Pochard 1977 a; 1983; Gebre - Selassie et al., 1985) y en Australia (Thomas et al., 1989).

La presencia de este virus presenta un mosaico moteado interno y arrugado de las hojas apicales y un bandeado oscuro de las venas de las hojas totalmente expandidas (Bruna, 1995; Nuez et al., 1996; Gaborjanzi et al., 1998).

Los síntomas se inician con un aclaramiento de las nervaduras de las hojas apicales que puedan evolucionar pasando a tonos pardos y necrosándose. Otros síntomas son enanismo, mosaico severo, deformación de hojas y frutos que pueden presentarse con manchas cloróticas y necróticas, reducción del tamaño del fruto y aborto floral.

El objetivo del presente trabajo es evaluar mediante inoculación artificial el comportamiento de híbridos cubanos frente a este virus.

Materiales y métodos

Las semillas se sembraron en cepellones, con sustratos de materia orgánica. Cuando las plántulas tenían la primera hoja verdadera se procedió a realizar la inoculación artificial según la metodología de Pochard y Palloix (1990) con la cepa son 41 que corresponde al patotipo 1,2. La preparación del inóculo viral fue de la siguiente forma:

a) Productos necesarios

1. Solución Tampón Fosfato (pH 7.1 -7.2)

2. 10.8g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{H}_2\text{O}$

2.18g de KH_2PO_4

Diluir esto en 100ml de H_2O destilada.

Esta solución tampón puede ponerse en el refrigerador para su conservación.

3. DIECA:

Inhibidor de las oxidasas endógenas responsables de la desnaturalización del virus cuando se maceran las hojas. Se le agrega a la solución Tampón en el momento de la inoculación.

4. Carborundun 400 mest: abrasivo

5. Carbón vegetal activado:

Permite la neutralización de los inhibidores de infección.

b) Preparación del inóculo viral.

Solución tampón de maceración

5 mL de tampón fosfato + 95 mL de agua destilada + 200 mg. de DIECA

Se toma 1 g de hojas virosas frescas o 1 g de BOS (hojas virosas secas guardadas en el refrigerador) y se maceran en un mortero (el cual se ha mantenido en el refrigerador) en 4 mL de solución tampón de maceración y añadir:

80 mg de carbón + 80 mg de Carborundun (para POTYVIRUS)

Si en vez de utilizar hojas frescas se utiliza BOS, el macedado se coloca en el refrigerador 10 minutos a 4 °C antes de inocular. Durante la maceración e inoculación, el mortero se mantendrá dentro de un recipiente con hielo. La inoculación se realizará con el dedo índice, frotando dos veces cada hoja cotiledonal. Debe protegerse el dedo con un dedal de látex. Dos o tres minutos después de la inoculación, deben lavarse las plantas con agua normal.

Los aislamientos de los virus utilizadas, así como los materiales inoculados, se muestran a continuación:

- 34 híbridos se inocularon con:
Virus Y de la Papa (PVY_{1,2}) Cepa Son 41.
- Cuatro híbridos se inocularon:
Virus Y de la Papa (PVY) aislado Estación Papa y Fibras IIHLD

Se utilizaron además un testigo resistente (SC 81) y un testigo susceptible (California Wonder) para el primer experimento y en el segundo se utilizó la variedad 'Valía' como testigo susceptible.

Se realizaron tres evaluaciones cada 7 días a partir del momento de la inoculación.

Resultados y discusión

En la Tabla 1 se observa el resultado de la inoculación artificial de híbridos frente al PVY 1,2. Las subdivisiones presentes en dicha tabla corresponden a diferentes progenitores femeninos utilizados. En el primer grupo de híbridos (1-6) que tiene como madre la variedad California Wonder presentaron desde la primera evaluación a los siete días después de la inoculación, un mosaico en las hojas jóvenes que se manifiesta por un oscurecimiento a lo largo de las venas, síntoma típico de esta enfermedad. En el segundo grupo (7-12) en el cual el progenitor femenino es la línea 30 y el tercer grupo (13-18) cuya madre es la línea 20 se observó la aparición de necrosis sistémica que comienza en las ner

viaciones y se extiende rápidamente por toda la planta. Esta necrosis provoca la muerte de la planta.

Híbridos	Primera	Segunda	Tercera
1	5 mo/5	-	-
2	6 mo/6	-	-
3	6 mo/6	-	-
4	6 mo/6	-	-
5	6 mo/6	-	-
6	6 mo/6	-	-
7	5 mo/5	-	-
8	6 n/6	-	-
9	5 n/5	-	-
10	6 n/6	-	-
11	6 mo/6	-	-
12	6 n/6	-	-
13	6 n/6	-	-
14	4n/4	-	-
15	6 n/6	-	-
16	0/6	6n/6	-
17	6 n/6	-	-
18	6 n/6	-	-
19	0/6	0/6	6R
20	0/6	0/6	6R
21	0/4	0/4	4R
22	1n/4	1n/4	3R
23	0/6	0/6	6R
24	0/6	0/6	6R
25	0/5	0/5	5R
26	0/6	0/6	6R
27	5mo/6	5mo/6	1R
28	3n + 1mo/5	1n	-
29	6n/6	-	-
30	6n/6	-	-
31	3n/4	--	1n
32	5n5/6	-	-
33	1mo/6	3mo/6	2mo/6
34	0/6	5n+1mo/6	-
35 (T)	6/6	-	-

TABLA No 1: EVALUACIÓN DE HÍBRIDOS FRENTE AL PVY (1,2) CEPA SON 41
mo : mosaico n: necrosis X/: número de plantas enfermas /X: número total de plantas R: resistentes

En los cotiledones inoculados se observaron numerosas lesiones locales de tipo hipersensible mas no lograron la resistencia del virus y éste se difundió por toda la planta. Esta reacción necrótica es determinada por el genotipo de la planta inoculada e igualmente por la cepa.

La expresión de la necrosis es fuertemente influenciada por las condiciones ambientales, como por ejemplo cuando hay condiciones de poca luz y temperaturas elevadas.

En el grupo del (19-26) cuyo progenitor femenino es la línea 48, ninguna planta presentó síntomas y se observaron lesiones locales necróticas y de tamaño reducidas esporádicamente sobre los cotiledones inoculados. Esto asegura que la línea 48 posee el gen Pr4 (P. potyvirus, r. resistente) que le confiere resistencia dominante por hipersensibilidad.

Existe otro grupo (27-34) cuyo progenitor femenino es la línea 29 donde aparecen plantas con síntomas de mosaico

y otras con necrosis al igual que los primeros grupos a que hacemos referencia.

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos en la inoculación artificial del PVY con el aislado en el cultivo de la papa. El híbrido número 1 y la variedad Valía (testigo susceptible) mostraron un mosaico ligero además de malformaciones genéticas del primero de ellos, lo cual indica que no existe un nivel alto de resistencia en dicho híbrido. El híbrido número 2 muestra dos plantas con síntomas lo cual nos dice que en algunas de sus líneas hay segregación. Los híbridos números 3, 4 y la variedad SC-81 no mostraron síntomas. Esta última variedad es el testigo resistente a todos los patotipos de PVY reportados hasta el momento.

Línea o híbrido	Reacción
Hib. 1	Mosaico ligero y malformaciones genéticas
Hib. 2	Sólo dos plantas con síntomas ligeros
Hib. 3	Sin síntomas
Hib. 4	Sin síntomas
SC 81	Sin síntomas
Valía	Mosaico ligero y malformaciones genéticas

TABLA No2. EVALUACIÓN DE HÍBRIDOS FRENTE AL PVY (AISLADO DE


Ciertos genotipos de pimiento presentan necrosis en presencia de la cepa Son 41 del PVY. El estudio de diferentes descendencias nos ha hecho concluir que el determinismo de la misma es monogénico dominante (Pr4) o monogénico recesivo, en el mismo locus pr1 y pr2. En diferentes cruzamientos inoculados con este virus los síntomas de necrosis sistémica se manifiestan sobre algunos de ellos, mientras que en otras presentan necrosis (Chaine - Dogimont, 1993).

Chen et al., (1991) han estudiado el determinismo de la necrosis en genotipos de Soya (Glicine max) inoculados con diferentes cepas de Soybean Mosaic Virus (SMB). Algunos genotipos que presentan el alelo Rsvl¹ dominante en presencia de cepas comunes de SMB-61 son resistentes de la cepa SMB-62 cuando el gen está en estado homocigótico, sin embargo se necrosa cuando está en estado heterocigótico. Nono et al., (1994) han revelado que cuando se estudian las descendencias de cruzamientos entre variedades sensibles al mosaico y variedades sensibles a la necrosis, la necrosis está controlada por un gen dominante.

La introducción de la necrosis sistémica de la planta inoculada al estado heterocigótico está reportada en el tomate con el gen Tm2² que confiere resistencia al TMV. Las temperaturas elevadas acentúan este fenómeno (Cirulli y Alexander, 1969; Pelham, 1972, Hall, 1980).

La línea 48 de origen cubano posee un gen dominante Pr4 el cual controla la resistencia al PVY_{1,2}. Generalmente se considera que los genes de hipersensibilidad están implicados en el control de resistencias específicas en el seno de la reacción gen por gen como el modelo TMV/pimiento, TMV/tomate, PVX/papa (Jones, 1990).

Conclusiones

- Existen varios híbridos estudiados con resistencia al PVY (1-2) como son los híbridos del 19 al 23 y al aislado de la papa (híbrido # 3 y # 4).
- El método de inoculación artificial utilizado para comprobar la resistencia al virus ha mostrado buena eficiencia.
- Es posible la obtención de híbridos con resistencia a las principales enfermedades causadas por virus, cuando está determinada por un gen dominante. 

Bibliografía

BRUNA, ALICIA

1995 Virus en el pimiento. Hortalizas. Virología. IPA "La platina". # 77: 22-25.

CHAINE-DOGIMONT, C.

1993 Etude de trois sistemas de resistance par hipersensibilite ou sequestration aux trois virus principaux infectant le piment (*Capsicum annuum* L). These de Docteur.

CHEN P, ROANE C.W., TOLIN S.A.

1991 Allelism among gene for resistance to soybean mosaic virus in strain - differential soybean cultivar. *Crop Science*, 31, 305-309.

CIRULLI M., ALEXANDER L.J.

1969 Influence of temperature and strain of tabacco mosaic virus on resistance in a tomato breeding line derived from *Lycopersicon peruvianum*. *Phytopathology*. 59, 1287-1297.

GABORJANYI, R; HORVATHY, K.J. AND KANZINIZE, G.

1998 Role of viruses in pepper decline in Hungria. *Crops University of Florida- Monograph*. 18- I and II. -p 150.

GEBRE-SELASSIE, K.; MARCHOUX, G.; DELICOLLE, B.; POCHARD, E.

1985 Variabiliti naturille des souches du virus Y de la pomme de terre dans les cultures de piment du Sudest de la France. - In: *caractérisation et classification in pathotypes*. *Agronomie*. 5(7): 621-630.

HALL T.J.

1980 Resistance at the Tm 2 locus in the tomato mosaic virus. *Euphytica*, 29, 189-197.

JONES, R A C

1990 Strain group specific and virus specif hypersensitive reactions to infecting with potyviruses in potato cultivars. *Ann. Appl. Biol.*, 117, 93 - 105.

MARCHOUX, G; POCHARD, E; CHAMONET, D; ROUGIER, J.

1974 Isolation of two PVY strain in peppers crops in South East France. Reserch for resistance genotypes. In: *II Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant*. 1-4. July, 1983. Budapest: 140-151.

NUEZ, F.; GIL ORTEGA R; COSTA J.

1996 El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Ediciones Mundi - Prensa. 607p.

PELHAN J.

1972 Strain genotype interaction of tobacco mosaic virus in tomato. *Ann. Appl. Biol.* 71, 219-228.

POCHARD, E.

1977 Etude de la resistance aux souches europeennes du virus Y de la pomme de terre (PVY) chez le pimmet. *Capsicum 77. Comptes rendus III Congrès Eucarpia Sur la Génétique et la Sélection du Piment*, 5-8 Julliet, France: 109-118.

POCHARD, E; K. GEBRE-SELASSIE; G. MARCHOUX.

1983 Oligogenic resistance to potato virus Y pathotype 1, 2. In the line Perennial. *Capsicum Newsletter* 2, 137-1.

POCHARD E. AND A. PALLOIX.

1990 Protocolos de trabajo. Station d'Amelioration des Plantes maraicheres. INRA - Avignon.

THOMAS, J.E; PERSLEY, D.M; MCGRATH, D.M; HIBBERT, A.M.

1989 Virus diseases of tomato and pepper in Queensland and some aspects of their control. In: *Green, S.K (Ed). Tomato and pepper production in the tropics*. Asian Vegetables Reserch and Development Center (AVRDC), Shanhua, Tainan: 250-259.