

Ensayos

Comportamiento del virus y de la papa en el cultivo del pimiento (*capsicum annuum* l.)

Resumen

Las enfermedades virales, son una de las principales causas que provocan grandes pérdidas económicas de consideración, algunas específicas de determinadas regiones, tales como el TEV y el PepMoV y otras expandidas por todo el mundo como el TMV, PVY y CMV. Son los causantes de enormes pérdidas de productividad, habiéndose comprobado que algunos virus pueden incidir hasta en el 90% de los individuos de una plantación lo cual puede llegar a provocar unas pérdidas en la cosecha del 15 al 65%. Cuba no escapa a esta situación, considerándose estas enfermedades como la principal limitante del desarrollo en este cultivo, por lo que el incremento del nivel de control genético de las mismas constituye una prioridad en los programas de mejora.

Abstract

Viral diseases are one of the main causes of major losses in agriculture. Some viruses, such as TEV and PepMoV, are specific to certain regions; and others, such as TMV, PVY and CMV, occur worldwide. They cause an enormous loss of production, as it has been shown that some viruses can impact up to 90% of plant population, resulting in losses of between 15 and 65 percent of a given crop. The situation in Cuba is no exception, and viral diseases are considered the main impediment to the development of sweet pepper cultivation in that country. For this reason an increase in the level of genetic control of viruses constitutes a priority in yield improvement programs.

Résumé

Les maladies virales sont une des principales causes qui provoquent des pertes économiques considérables. Certaines sont spécifiques à des régions déterminées, comme le TEV et le PepMoV et d'autres se retrouvent dans le monde entier comme le TMV, PVY y CMV. Elles sont la cause d'énormes pertes de productivité : on a démontré que certains virus peuvent infecter jusqu'à 90% des individus d'une plantation, ce qui peut provoquer une perte de 15 à 65% de la récolte. Cuba n'échappe pas à cette situation. Ces maladies sont considérées comme la principale cause limitant le développement de cette culture, c'est pourquoi l'augmentation du niveau de contrôle génétique constitue une priorité dans les programmes d'amélioration.

* Yaritza Rodríguez Lanes y
Jorge Alberto Carbonell Ríos

Palabras clave:

Pimiento, TEV, TMV, CMV, PVY, PepMoV, control genético.

Introducción

El pimiento ha sido otras de las plantas hortícolas que ha sufrido implacablemente la incidencia de enfermedades de etiología viral. Este cultivo presenta un complicado aspecto dentro de estas infecciones mencionadas anteriormente, pudiéndose encontrar tanto de forma simple o individual como infecciones mixtas, causando una sintomatología variable. A nivel mundial se conocen más de 30 virus capaces de afectar al cultivo del pimiento. La incidencia es variable según los años y dependiente de diversos factores, entre los cuales cabe señalar las condiciones ambientales. La sintomatología dependerá así mismo, del momento en el cual sufren la infección, siendo más grave le sobrevenga en un estado vegetativo temprano (abcagro, 2010).

En Cuba, se hace necesaria una creación varietal sostenible y competitiva para lograr nuevos cultivares para diferentes propósitos comerciales, de alto potencial de rendimiento, buena

* Instituto de Investigaciones Hortícolas
"Liliana Dimitrova"

adaptación climática y resistencia a las principales enfermedades, ya que se renuevan los atributos exigidos por el mercado. La misma debe contemplar la producción de híbridos F_1 , dado sus ventajas (Depestre, 2002).

Los virus transmitidos por insectos vectores resultan ser uno de los factores más importantes que inciden sobre el rendimiento y la viabilidad de los cultivos hortícolas en muchas partes del mundo. A lo largo de los últimos años, hemos sido testigos de tremendas pérdidas de cosecha y de abandono de varios cultivos como consecuencia de ciertas virosis extendidas por amplias zonas del litoral mediterráneo y otros lugares. Entre éstas, las de mayor importancia económica son provocadas por virus que son transmitidos por varios grupos de insectos vectores: pulgones (PVY, CMV y CARNA-5), tisanópteros (TSWV) y mosca blanca (TYLCV). La intensidad de ataque de una u otra virosis está ligada, entre otros factores, a la abundancia o actividad de los vectores de estos virus. Así, por ejemplo, la gran explosión del virus del bronceado (TSWV) que tuvo lugar en los años 1989-1991 en el litoral mediterráneo, estuvo asociada a la nueva introducción en España en esas mismas fechas del vector más eficiente de este virus (*Frankliniella occidentalis*, Pergande) (Concepción y Lacasa, 1991).

Entre las estrategias de control de estas virosis destacan los métodos preventivos, que fundamentalmente se basan en impedir que el virus sea transmitido por el vector, o bien en impedir que pueda replicarse en la planta una vez transmitido. Entre estos métodos se destacan los tratamientos con insecticida con el fin de limitar la población de vectores, la búsqueda de cultivares resistentes a la transmisión o al propio virus y el uso de aceites minerales. Ante la inminente reducción en el consumo de productos fitosanitarios debido a las exigencias comunitarias en relación con la protección del medio ambiente y la conservación del espacio natural, es de vital importancia encontrar otros métodos eficaces y económicamente rentables que permitan controlar estas virosis transmitidas por insectos vectores (Concepción y Lacasa, 1991; abcgro, 2010).

Teniendo en cuenta estos antecedentes el objetivo del presente trabajo fue realizar una revisión

de la información disponible sobre este potyvirus en pimiento para la preparación de técnicos y profesionales en la identificación y diagnóstico de la enfermedad al ser explotado eficientemente en los sistemas de producción de cultivo protegido y a cielo abierto, en Cuba.

Desarrollo Virus Y de la patata

Origen y distribución del virus

El virus Y de la patata o de la papa (PVY – Potato virus Y) se encuentra en todo el mundo. Ya en 1940 se diagnosticó la presencia de este virus en pimiento (*Capsicum annuum* L.) en Puerto Rico. En el área mediterránea fue descrito por primera vez en 1960. El virus Y de la papa se encuentra con más frecuencia en las regiones templadas y subtropicales de América y Europa. También se encuentra distribuido por otras zonas bastante separadas unas de otras. Así por ejemplo se ha diagnosticado PVY sobre pimiento en lugares como Australia, Japón, India e Israel (abcagro, 2010).

El PVY causa pérdidas importantes en pimiento bien solo o en compañía de otros virus como el virus del mosaico del tabaco (TEV), virus del mosaico del tomate (ToMV), virus del mosaico del pepino (CMV), virus del grabado del tabaco (TEV), entre otros. (Botánica-on-line, 2008; abcgro, 2010).

Características generales del virus

Los virus son entidades infectivas, submicroscópicas, que sólo se multiplican intracelularmente y son potencialmente patógenas. Se conocen más de un millar de virus patógenos de plantas cultivadas. Se han agrupado los virus de vegetales en 13 familias con RNA de cordón simple (Luteovirus, Tabaco Necrosis Virus Group, Tombus Virus, Alfalfa Mosaic Virus, Cucumovirus, Ilarvirus, Tobamovirus, Potyvirus, Potexvirus, Carlavirus, Closterovirus, Rhabdovirus y Tospovirus); una con RNA de cordón doble (Reoviridae); una con DNA de cordón simple (Geminivirus) y una con DNA de cordón doble (Caulimovirus). Diez, de éstas 13 familias incluyen los principales virus patógenos del pimiento (Botánica-on-line, 2008). Este grupo (10 familias) tiene partículas flexuosas alargadas, entre 680 – 950 nm de longitud y 13 nm de anchura, con una molécula de RNA monocatenario, de

sentido positivo y una única proteína en la cápsida. La infección viral está a menudo asociada con inclusiones intracelulares, citoplasmática y nucleares, en forma de molinillo, de haces y de agregados laminares (Pollotón, 2010).

En las Tablas 1 y 2 se resume las principales características de cinco de los virus que conforman este grupo de 10 familias, primeramente se muestra el síntoma en hojas y frutos, el método de lucha y posteriormente la expresión de la resistencia en cada uno de ellos.

Clasificación del virus

Los potyvirus (Familia: Potyviridae, género: Potyvirus) deben su nombre a su especie tipo, el virus Y de la patata (Potato virus Y, PVY) y constituyen el más numerosos de los 69 géneros de virus de plantas descritos hasta la fecha, sumando 180 especies entre definitivas y posibles, lo cual representa el 20 % de los virus de plantas conocidos (Van Regenmortel et al., 2000). Todo los miembros de esta familia tienen en común la morfología de los viriones, que forman filamentos alargados y flexibles

Virus	Síntomas en hojas	Síntomas en frutos	Transmisión	Métodos de lucha
TMV ToMV	Mosaico verde claro amarillento Reducción del crecimiento	Deformaciones y necrosis	Semillas mecánica	Uso de variedades resistentes Evitar transmisión mecánica Eliminar plantas afectadas
PVY	Necrosis de los nervios Defoliaciones Manchas verde oscuras	Manchas necrosis y deformación	Áfidos	Uso de variedades resistentes Control de áfidos Eliminar plantas afectadas
TEV	Manchas verde oscuras Mosaico Reducción del crecimiento	Manchas y deformaciones	Áfidos	Uso de variedades resistentes Control de áfidos Eliminar plantas afectadas
CMV	Mosaico verde claro amarillento Clorosis difusa Filiformismo Rizamiento	Reducción de tamaño, anillos y líneas irregulares	Áfidos	Uso de variedades resistentes Control de áfidos Eliminar plantas afectadas

TABLA 1: RESUMEN DE LAS PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LOS CINCO VIRUS MÁS IMPORTANTES QUE ATACAN AL CULTIVO DEL PIMIENTO.

Parásito	Expresión de la resistencia/control genético
Tobamovirus (TMV, PMMV)	Hipersensibilidad; dominante en el locus <i>L</i>
Virus Y de la papa (PVY)	Pseudoinmunidad; recesivo en el locus <i>pvr</i> ; Hipersensibilidad; <i>Pvr4</i> , <i>Pvr7</i> dominante
Virus del moteado del pimiento (PepMoV)	Resistencia con largo espectro de acción; <i>Pvr4</i> dominante
Virus del grabado del tabaco (TEV)	Pseudoinmunidad; recesivo en el locus <i>pvr</i>
Chili veinal mottle virus (CVMV) y Pepper veinal mottle virus (PVMV)	Varias fuentes de resistencia parcial o total, oligo o poligénica
Virus del bronceado del tomate (TSWV)	Hipersensibilidad; <i>Tsw</i> dominante
Virus del mosaico del pepino (CMV)	Varias fuentes de resistencia parcial poligénica
Phytophthora capsici	Varias fuentes de resistencia parcial poligénica
Colletotricum sp.	Varias fuentes de resistencia parcial poligénica
Sclerotium rolfsii	Varias fuentes de resistencia parcial
Leveillula taurica	Varias fuentes de resistencia parcial, oligo y poligénica
Cercospora capsici	Varias fuentes de resistencia parcial, recesiva oligogénica
Verticillium dahliae	Varias fuentes de resistencia parcial poligénica
Xanthomonas campestris pv vesicatoria	Hipersensibilidad; <i>Bs1</i> , <i>Bs2</i> y <i>Bs3</i> dominantes
Nemátodos	Hipersensibilidad; <i>Me1</i> al <i>Me5</i> dominantes; <i>Me7</i>
Trips	Varias fuentes de resistencia parcial

TABLA 2: RESUMEN DE LA EXPRESIÓN DE LA RESISTENCIA Y CONTROL GENÉTICO DE LOS PRINCIPALES PARÁSITOS MÁS IMPORTANTES QUE ATACAN AL CULTIVO DEL PIMIENTO.



FIG. 1. MICROFOTOGRAFÍA ELECTRÓNICA DE PARTÍCULAS VIRALES PURIFICADAS DEL POTYVIRUS Y DE LA PATATA (PVY) CON TINCIÓN NEGATIVA.

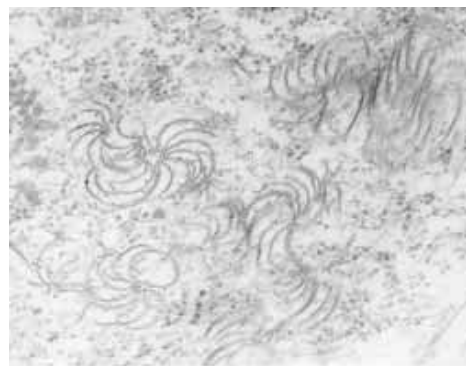


FIG. 2. MICROFOTOGRAFÍA DE CUERPOS DE INCLUSIÓN CITOPASMÁTICA («PINWHEELS») INDUCIDOS POR EL POTYVIRUS Y DE LA PATATA (PVY) EN CÉLULAS DE NICOTIANA BENTHAMIANA

de 12 a 15 nm de diámetro y de 650 a 950 nm de longitud. También se caracterizan por la presencia de inclusiones cilíndricas en forma de rueda de molino («pinwheels») en el citoplasma de las células infectadas (Martínez-García, 2000). Fig 1 y 2.

Organización y expresión genómica de los potyvirus

La partícula viral o virión de los potyvirus está compuesta por una sola cadena de ARN de unas 10 kb y sentido mensajero, rodeada por aproximadamente dos mil copias de la proteína de la cápsida (CP) viral. El ARN genómico de los potyvirus lleva unida covalentemente una proteína VPg en su extremo 5' y una cola poliadenilada en el 3'. El ARN viral contiene una única fase de lectura abierta (ORF) flanqueada por regiones no codificantes que se traduce en una única poliproteína de aproximadamente 350 kDa, cuyo procesamiento por proteasas virales da lugar a los productos proteicos finales (López-Moya y García, 1999). Dichas proteasas son: P1 (Yang et al., 1998), HC-Pro y Nia (García et al., 1990) (Fig. 3). Los productos proteicos finales son: P1, factor de transmisión o componente auxiliar («helper component», HC-Pro), P3, 6k1, proteína de las inclusiones cilíndricas (CI), 6k2, proteína «a» de las inclusiones nucleares (NIa), proteína «b» de las inclusiones nucleares (NIb) y CP. El HC-Pro y la CP intervienen directamente en el proceso de transmisión de los potyvirus por pulgones (Martínez-García, 2000).

Proteínas de los potyvirus implicadas en el proceso de transmisión por pulgones

El HC-Pro, de 48 a 58 kDa de peso molecular, es una proteína multifuncional que se ha sugerido podría formar depósitos insolubles en el citoplasma de la

célula infectada, dando lugar a las inclusiones amorfas que inducen algunos potyvirus. El HC-Pro presenta en su extremo carboxilo un dominio tiol-proteasa que le confiere capacidad autoproteolítica. En su extremo amino se ha descrito un posible lugar de glicosilación (Lain et al., 1989) así como una región rica en residuos de cisteína que podría formar estructuras similares a los denominados dedos de zinc (Robaglia et al., 1989) a los que se atribuye un papel estructural y/o funcional.

Se ha demostrado que el HC-Pro es capaz de interaccionar con ácidos nucleicos (Merits et al., 1998) y, si bien una de sus funciones más estudiada es la relacionada con el proceso de transmisión de los potyvirus por pulgones (Maia et al., 1996), parece intervenir en otros procesos como son la replicación y acumulación de virus (Andrejeva et al., 1999), determinación de síntomas (Legavre et al., 1996), movimiento a larga distancia del virus en la planta (Kasschau et al., 1997), movimiento célula a célula (Rojas et al., 1997) o inducción del efecto sinérgico y activación en trans de la replicación de otros virus (Shi et al., 1997). Algunas de estas propiedades del HC-Pro podrían convertirse en facetas derivadas de una función general descrita recientemente, como es la inhibición del mecanismo de silenciamiento génico postranscripcional en la planta huésped (Marathe et al., 2000).

La CP, de 30 a 37 kDa, está encargada principalmente de encapsidar el ARN viral. Presenta un dominio central resistente a la digestión con tripsina, altamente conservado entre los potyvirus, y dos dominios en los extremos amino y carboxilo, variables en longitud y secuencia, que no son necesarios para el ensamblaje de la partícula viral ni

para la infectividad mediante inoculación mecánica. La porción amino terminal resulta esencial para la transmisión por pulgones de los potyvirus y en ella se localiza un triplete de aminoácidos Asp-Ala-Gly (DAG) directamente involucrado en dicho proceso. La CP está además asociada con la dispersión del virus en la planta tanto a corta como a larga distancia. Aunque la CP es la única proteína viral que no parece necesaria para la replicación del virus, la secuencia de ARN que la codifica sí parece jugar un papel esencial en este proceso (Martínez-García, 2000).

El genoma del PVY está formado por un único ARN (5.4-6.4%) de cadena simple, de polaridad positiva y de alrededor de 10.4 kb. Tiene un contenido en proteínas que oscila entre 93.6-94.6% y 0% de lípidos. Los viriones filamentosos, normalmente flexuosos con una longitud de 684 nm o 730 nm y una anchura de 11 nm (Pollotrón, 2010).

La clasificación de los virus está basada en aspectos morfológicos, tipo y cantidad de ácido nucleico, estructura del genoma y tipo de vector. Considerando estos aspectos los grupos de virus

más comunes en las plantas frutales son: Nepovirus (figura 1), Ilarvirus (figura 2), Potyvirus (figura 3) y Closterovirus (figura 4).

El grupo de los nepovirus se distingue por ser transmitidos en condiciones naturales por nemátodos vectores. El virus tiene dos tipos de partículas isométricas de 25 a 28 nanómetros de diámetro. Este virus presenta una gran versatilidad puesto que afecta a una gran variedad de especies frutales, hortícolas y malezas. Esta característica, junto a su capacidad de ser transmitido a través del material de propagación, semillas y polen, le permiten perpetuarse en la naturaleza y ser de muy difícil control. El grupo de los ilarvirus se distingue por su propiedad de ser transmitido mediante el material de propagación, polen y semillas. Su genoma esta compuesto de tres tipos de partículas isométricas de entre 25 a 35 nanómetros de diámetro. Este es el grupo de virus más común dentro de las plantas frutales y aunque su daño no es severo causan pérdidas consistentes a través del tiempo El grupo de los closterovirus se distingue por su tamaño; son filamentosos de entre 800 y 2000 nanómetros de largo.

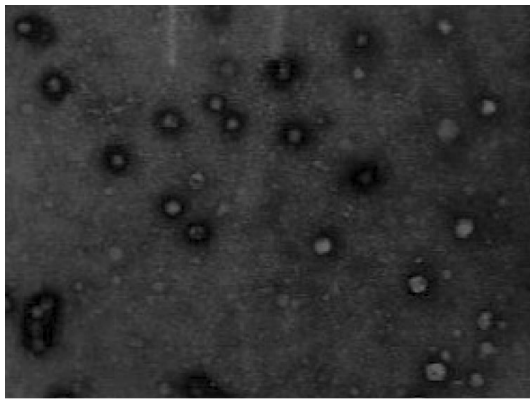


FIGURA 3: NEPOVIRUS

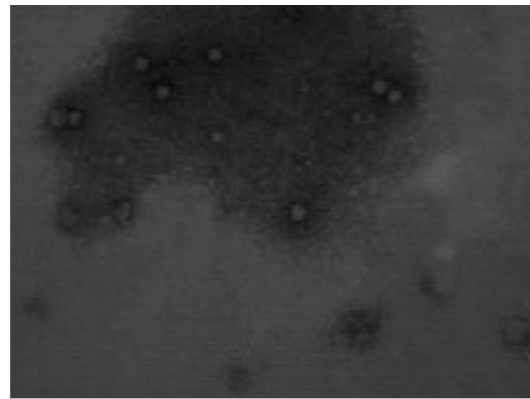


FIGURA 4: ILARVIRUS



FIGURA 5: POTYVIRUS

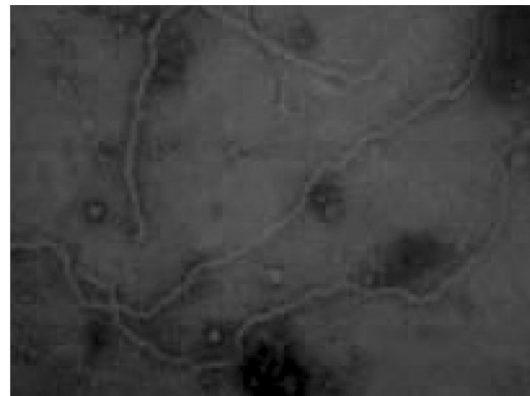


FIGURA 6: CLOSTEROVIRUS

La mayoría se transmite en condiciones de campo mediante áfidos vectores en forma semipersistente. Es decir, el virus sólo permanece pocos minutos viables en el aparato bucal del insecto para ser transmitidos desde una planta enferma a otra sana. El grupo de los potyvirus se distingue por tener las partículas morfología filamentosa de aproximadamente 800 nanómetros de largo. Este grupo de virus se caracteriza por ser transmitido en forma eficiente por áfidos vectores, lo que le permite diseminarse rápidamente dentro de las plantas de un huerto (Martínez-García, 2000).

Importancia económica

Desde los años 40 – 50 causa pérdidas importantes en *Capsicum* sp. ya sea solo o en compañía de otros virus, como TMV (virus del mosaico del tabaco), ToMV (virus del mosaico del tomate), CMV (virus del mosaico del pepino), TEV (virus del grabado del tabaco), etc. En España tiene importancia en invernaderos, pero sobre todo se le encuentra al aire libre. Hasta la aparición del virus del bronceado en tomate (TSWV), el PVY era el virus más importante en los cultivos de pimiento al aire libre en las zonas de clima mediterráneo y en los valles internos de la mitad sur peninsular (Trigiano et al., 2004; García, 2006; Wikipedia, 2008).

Las enfermedades producidas por virus en pimiento causan importantes pérdidas de producción. Entre los virus destaca el Virus Y de la Patata (PVY), un potyvirus capaz de infectar al pimiento en todas las zonas de cultivo y frente al cual el empleo de variedades resistentes se ha revelado como el método de lucha más eficaz. En este trabajo se ha analizado la resistencia frente a PVY presente en la variedad de pimiento “Serrano Criollo de Morelos-334” (SCM-334). Para ello se han llevado a cabo dos estudios: un análisis a nivel biológico de diversos aislados de PVY, clasificados en diferentes patotipos, así como un estudio de los niveles de resistencia frente a PVY presentes en materiales derivados de “SCM-334”. Paralelamente a estos trabajos se procedió a la búsqueda de marcadores moleculares tipo RAPDs ligados al gen de resistencia Pvr4 presente en “SCM-334”. Los aislados de PVY utilizados en este trabajo se inocularon en la serie diferencial de variedades de pimiento empleada para la caracterización de patotipos de PVY. De los aislados empleados, un 21% varió su

comportamiento biológico, respecto a su clasificación previa en patotipos, tanto hacia mayor como hacia menor virulencia, aunque no se han podido establecer las causas de estos cambios. Además, no se observó influencia del estado fenológico de las diferentes variedades para la distinción de patotipos de PVY. A partir de diversos materiales derivados de “SCM-334”, por su comportamiento diferente frente a PVY, se ha observado que dentro de la variedad “SCM-334” deben existir otros genes de resistencia, además de los descritos hasta el momento, Pvr4 y pvr5. El estudio de la aparición de síntomas necróticos sistémicos en algunos materiales de “SCM-334” después de su inoculación con PVY, dependió del patotipo inoculado, al observarse únicamente con aislados pertenecientes a PVY-1-2, 1-3 y 1-2-3 y parece estar controlado genéticamente por un gen que se expresa cuando Pvr4 no está presente, teniendo una máxima expresión cuando está en homocigosis. La búsqueda de marcadores tipo RAPDs ligados al gen Pvr4 se realizó empleando la técnica “Bulked Segregant Analysis” (BSA) a partir de una F2 entre “SCM-334” y “Yolo Wonder” y permitió detectar el marcador UBC19 1432 ligado en repulsión al gen de resistencia Pvr4 a una distancia de 4.3 cM. Dicho marcador se transformó en un marcador tipo SCAR, denominado SCUBC19 4123, cuyo empleo en programas de mejora asistida por marcadores resulta más útil que el marcador tipo RAPD. Se ha comprobado que ambos marcadores están presentes en un amplio número de genotipos que no llevan el gen de resistencia Pvr4 y UBC19 4132 ha sido localizado en un mapa saturado de marcadores moleculares interespecífico del género *Capsicum* en el mismo grupo de ligamiento que un marcador CAPs también ligado a Pvr4 y en un área donde se encuentran otros genes de resistencia dominantes (García, 2006; Martínez, 2007).

Cepas o razas

Debido a la expresión mundial del PVY, se llegaron a identificar una gran variedad de cepas y bpatotipos de este virus. Basándose en propiedades biológicas, serológicas y moleculares, así como en los síntomas sobre patata y tabaco (Wikipedia, 2008). Aunque hay aislados que no pertenecen a estos grupos, los aislamientos de PVY son clasificados en tres grupos o razas:

PVY⁰, cepas comunes
PVYⁿ, cepas necróticas sobre tabaco
PVY^c, cepas que producen punteado estriado

La raza predominante en el mundo ha sido la común (PVY⁰), con reportes de la raza necrótica (PVY^N) sobre todo en Europa, Africa, Nueva Zelanda y América del Sur, mientras que la raza PVY^c fue reportada en Europa, Australia, América y Sudáfrica. PVY⁰ provoca síntomas de moteados suaves en tabaco, mientras que en papa ocasiona desde moteados hasta necrosis severas, según los cultivares. En tabaco PVY^N causa muerte de las nervaduras, hojas y tallos, mientras que en papa da una gama de síntomas foliares que van desde mosaicos no visibles hasta moderados, dependiendo también de los cultivares. Un nuevo grupo llamado PVY^{NTN} está asociado en algunos cultivares de papa, con anillos necróticos internos y externos, arcos o decoloración sobre tubérculos, llamada “Enfermedad de los anillos necróticos del tubérculo”. Esto ha sido citado en Europa desde los años ‘80 y en la última década en América del Norte. Recientes estudios de las secuencias genéticas de varios aislamientos de PVY^{NTN} indican que son derivados de recombinación entre PVY^N y PVY⁰ (PVY^{N:O}). Revelamientos realizados en la Argentina hasta 1990 sugirieron que PVY^N habría sustituido a PVY⁰ en los cultivos comerciales de papa. Sin embargo en los últimos años ha sido observada una gran variabilidad en los síntomas en plantas, incluyendo los anillos necróticos en los tubérculos. Actualmente en el laboratorio de Análisis de Semilla de Papa del INTA se está realizando una caracterización biológica, serológica y molecular de cincuenta aislamientos de PVY colectados a partir de muestras de cultivos comerciales de papa desde 1996 a la fecha. En ensayos de invernadero realizados sobre tabaco (*Nicotiana tabacum* cv. Xanthi), y serológicos con anticuerpos específicos (test ELISA), se comprobó la presencia de las tres razas: PVY⁰, PVY^c y PVY^N. No obstante, algunos aislamientos clasificados biológicamente como PVY^N, reaccionaron serológicamente como PVY⁰ y viceversa. Representantes de ambos grupos fueron capaces de inducir síntomas de anillos en tubérculos (Roger et al., 2003; Wales, 2008).

Estos resultados sugieren la necesidad de usar herramientas más precisas para analizar esta variabilidad. Estudios moleculares preliminares que buscan detectar la presencia de posibles aislamientos recombinantes (PVY^{N:O}) sugieren la existencia de al menos cuatro grupos con secuencias genéticas diferentes dentro de los aislamientos de PVY argentinos. También debe destacarse el trabajo en Brasil y Argentina donde al menos se distinguieron seis cepas: PVYⁿ, PVY^w, PVY^f, PVY^{ff}, PVY^t y PVY^m (Nagai y Costa, 1972). Usando las series de cultivares de pimiento propuestos por Smith (1974), los aislados de PVY procedentes de diferentes plantas y países del mediterráneo europeo fueron clasificados en tres patotipos: PVY – 0, PVY – 1 y PVY – 1 – 2 (Gebre – Selassie et al., 1985). Resultados similares han sido encontrados en España (Luis y Gil Ortega, 1986); Italia y Australia (Thomas et al., 1989), lo que convierten a este sistema en el más comúnmente usado. No obstante aún siguen usándose otros y existen cepas atípicas que no encajan bien en este sistema (Colavita, 2009).

Transmisión

El PVY puede ser transmitido por al menos 25 especies de áfidos de manera no persistente; *Myzus persicae*, Sulzer (1976) citado por Comité Nacional Sistema Producto Oleaginosas, (2005) es el vector más eficaz, aunque no puede transmitir las cepas de patatas del tipo PVY^c. Otros áfidos son *Aphis craccivora*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus* (*Nectarosiphon*) *certus*, *Myzus* (*Phorodon*) *humuli* y *Rhopalosiphum insertum*.

La transmisión de PVY por pulgones, puede depender de la presencia en los extractos de la planta de un componente de ayuda que es una proteína codificada por el virus. El tiempo óptimo de adquisición es de 15 – 60 segundos. Generalmente los áfidos dejan de transmitir el virus al cabo de una hora de haberlo adquirido, aunque se citan casos de retención de más de 24 horas (Pasko, 1993). En algunos casos se ha comprobado que *M. persicae* puede retener al PVY durante más de seis días. Estas mayores persistencias del virus en el vector pueden explicar las rápidas expansiones de la virosis (Moreno et al., 2005; Infojardín, 2009).

La transmisión no persistente del virus por el áfido se caracteriza por el poco tiempo durante el cual es infectivo el vector, el virus se pierde en las mudas

del pulgón, no se transmite a la descendencia y se pierde al inyectar el estilete en un nuevo individuo. Dentro de la planta la transmisión sigue el modelo general para los virus. En un primer momento infecta la parte donde se encuentra el punto de entrada, posteriormente se mueve célula a célula hasta llegar a los ápices, donde a través del sistema vascular, se extiende a toda la planta. Zeyen y Berger (1990) observaron que el tiempo de persistencia depende de cómo se realice la adquisición del virus por el áfido, proponiendo cambiar el término «no persistente» por «persistencia dependiente de prueba». Los virus no persistentes se transmiten en las piezas bucales de los insectos (estiletos en el caso de los chupadores), donde pueden permanecer viables desde pocos minutos, hasta varias horas (Nebrada et al., 2005; Fernández et al., 2006).

Los virus de plantas para sobrevivir deben ser capaces de replicarse en las células del huésped, expandirse por el mismo y colonizar nuevas plantas. El proceso de transmisión de una planta a otra resulta esencial, habiéndose desarrollado diversas estrategias que, en la mayoría de los casos, involucran un insecto vector. Los potyvirus son transmitidos en la naturaleza por pulgones, en un proceso en el que intervienen, al menos, dos proteínas de origen viral: la proteína de la cápsida y el factor de transmisión. Existen varias líneas de evidencias que apoyan la hipótesis de una actuación del factor de transmisión a modo de intermediario entre las partículas virales y el estilete del pulgón. En esta revisión se presenta una visión histórica de los conocimientos existentes hasta el momento acerca de los aspectos moleculares del proceso de transmisión de los potyvirus por pulgones (Fernández et al., 2006).

La mayoría de los potyvirus son transmitidos por pulgones en un proceso definido como de tipo no circulativo y no persistente. En la transmisión no circulativa el virus se asocia temporalmente con superficies del interior del tracto digestivo sin cruzar barreras celulares y se transmite inmediatamente después de su adquisición. La transmisión de tipo no persistente es aquella que se ve favorecida por tiempos de adquisición cortos y ayuno previo. De los mecanismos de transmisión en los que participan los pulgones como organismos vectores, el de tipo no circulativo y no persistente, por sus características

descritas anteriormente, es el que representa un mayor desafío en cuanto a las estrategias de prevención y control de enfermedades virales en cultivos de interés económico, haciendo inútil el uso de plaguicidas para controlar el vector y llegando incluso con su empleo a incrementar la dispersión de la enfermedad al favorecer un mayor desplazamiento de los pulgones en el cultivo (Nebrada et al., 2005; Díaz et al., 2006).

Caracterización del factor de transmisión HC-Pro

Los virus de plantas que se transmiten de modo no circulativo han desarrollado dos estrategias diferentes que regulan la interacción molecular con el vector. Así, puede tener lugar una interacción directa de la CP viral con el vector, como ocurre con los alfamovirus, cucumovirus y carlavirus, o bien puede hacerse necesaria la presencia de, al menos, una proteína no estructural para que la transmisión tenga lugar, como es el caso de los potyvirus y caulimovirus. La participación de un componente viral además del virión en el proceso de transmisión de los potyvirus fue determinada en trabajos con el potyvirus C de la patata (PVC) y el potexvirus del mosaico aucuba de la patata (PAMV). Trabajos previos habían puesto de manifiesto que tanto PVC (Watson, 1960) como PAMV (Kassanis, 1961) eran incapaces de transmitirse por pulgones a menos que estuvieran acompañados de PVY en una infección mixta. Posteriormente se comprobó que para que la transmisión tuviera lugar no era necesaria una mezcla con PVY en la planta, sino que bastaba con que los pulgones se alimentaran previamente en plantas infectadas con PVY (Martínez-García, 2000; Nebrada et al., 2005).

El desarrollo de un sistema de alimentación artificial de pulgones a través de membranas de Parafilm supuso un gran avance en la determinación de los factores que participaban en el proceso de transmisión. Este sistema permite la adquisición independiente de viriones y/o posibles factores auxiliares de la transmisión en una solución azucarada sobre la que se alimentan los pulgones vectores. De esta manera se comprobó que las partículas virales purificadas de PVY tampoco eran transmitidas por los pulgones cuando éstos se habían alimentado previamente sobre una planta sana pero sí lo eran cuando los pulgones se alimentaban de una hoja

infectada con PVY e irradiada con luz ultravioleta para desactivar el virus en la hoja. La transmisión de PVY era efectiva siempre y cuando el pulgón adquiriese el factor auxiliar al mismo tiempo o previamente a los viriones, pero no lo era si la adquisición era posterior. De esta manera, se concluyó que dicho factor no estaba relacionado con la partícula viral y pasó a denominársele factor de transmisión o componente auxiliar («helper component», HC-Pro. Con este sistema de alimentación artificial se analizaron diversos extractos de plantas mezclándolos con partículas purificadas con el fin de identificar en qué fracción residía dicha actividad auxiliar. El HC-Pro se localizaba así en la fracción sobrenadante obtenida por ultracentrifugación del extracto vegetal (Hook y Federes, 2006; Díaz et al., 2006).

La naturaleza proteica del HC-Pro quedó demostrada al tratar preparaciones semipurificadas con proteasas, estimando el peso molecular de la proteína en 100-200 kDa por filtración en gel y ultrafiltración. Mediante el sistema de alimentación artificial por membrana se demostró la dependencia de un factor auxiliar para la transmisión de diversos potyvirus. Posteriormente se observó que los factores de transmisión inducidos en planta por dos potyvirus (PVY y el virus del moteado de las venas del tabaco, TVMV) eran distintos serológicamente, lo que demostraba que se trataba de una proteína codificada por el propio virus, y no por la planta, en respuesta a la infección viral. Este dato fue confirmado por identificación serológica del HC-Pro como un producto de la traducción *in vitro* del ARN de un potyvirus. Finalmente, se identificó la forma monomérica del HC-Pro en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE) como una proteína de 53 a 58 kDa. El hecho de que su forma activa en transmisión tuviera un peso aparente de 100 a 200 kDa llevó a la asunción, ampliamente aceptada, de que la forma activa del HC-Pro es un homodímero (Nebrada et al., 2005; Fernández et al., 2006).

Hipótesis sobre el mecanismo de transmisión de los potyvirus

Teniendo en cuenta que el HC-Pro ha de ser adquirido anterior o conjuntamente con el virus para que la transmisión de los potyvirus por pulgones sea eficiente. Hook y Federes, (2006); Díaz et al., (2006)

se han propuesto diversas hipótesis sobre el modo en que esta proteína interviene durante el proceso de transmisión:

- a) Actuando a modo de «puente» entre el virus y el vector, uniéndose tanto a la CP viral como a los puntos de retención en el canal alimenticio del pulgón (Govier y Kassanis, 1974a).
- b) Protegiendo al virus frente a condiciones adversas en el tracto digestivo del vector (López-Abella et al., 1981).
- c) Modificando el extremo amino de la CP viral de manera que faculte a la partícula viral para interactuar directamente con el vector (Salomon y Bernardi, 1995).

Si bien las tres hipótesis pueden ser a un tiempo correctas, la más ampliamente aceptada es la hipótesis del «puente» que postula la interacción específica del HC-Pro tanto con el virión como con el pulgón, anclando la partícula viral al estilete del vector y permitiendo su posterior inoculación en la planta. El hecho de que partículas virales purificadas y marcadas radiactivamente con ¹²⁵I se acumulasen en el tercio distal del estilete del pulgón en presencia de HC-Pro, pero no en ausencia del mismo, constituyó la primera evidencia a favor de esta idea. Más tarde, empleando técnicas de inmunomarcado con microscopio electrónico, se pudo localizar el HC-Pro conjuntamente con viriones en la epicutícula del canal alimenticio e intestino anterior de pulgones que se habían alimentado de una solución que contenía virus y HC-Pro purificados. Por el contrario, los viriones no se detectaron en estas zonas en ausencia de HC-Pro, confirmando que esta proteína era responsable de la retención de la partícula viral en el estilete del pulgón. Por otra parte, la pérdida de transmisibilidad de ciertos mutantes que presentaban alterada bien la CP o bien el HC-Pro se debió a la incapacidad para ser retenidos en el canal alimenticio del estilete del pulgón, indicando que los viriones que quedan anclados dentro del mismo son los responsables del éxito de la transmisión vectorial (Nebrada et al., 2005).

De este modo, queda patente la estrecha correlación existente entre la capacidad de retención del virión en el canal alimenticio del pulgón y su transmisión. Esta hipótesis del «puente» es el modelo

comúnmente aceptado tanto para la transmisión por pulgones de potyvirus como de caulimovirus (Pirone y Blanc, 1996) y, por analogía, para todos aquellos géneros de virus en cuya transmisión se ha demostrado la intervención de una proteína auxiliar.

La segunda hipótesis (López-Abella et al., 1981) se basa en observaciones al microscopio electrónico de extractos de la porción anterior del tracto alimenticio de pulgones. Estos pulgones se alimentaron a través de membrana con soluciones de virus purificado mezclado con HC-Pro o con virus purificado fijado con formaldehído. El hecho de que se observara un mismo número de partículas virales en ambos casos llevó a la idea de que el HC-Pro podría tener un efecto protector de las partículas virales, evitando su ruptura o agregación. La hipótesis propuesta por Salomon y Bernardi (1995) se basa en trabajos de transmisión en los que los pulgones resultaron incapaces de transmitir virus de modo eficiente cuando previamente se habían alimentado de una solución que contenía péptidos correspondientes al extremo amino de la CP del virus del enanismo del mosaico del maíz (MDMV) expresados en *Escherichia coli*. En base a estos resultados, se sugirió que el extremo amino de la CP expresado como una proteína libre sería capaz de unirse al estilete del pulgón, mientras que en el caso de la CP completa se requeriría la intervención del HC-Pro para inducir un cambio conformacional de dicho extremo que permitiese su unión al estilete. Experimentos similares no han conseguido, sin embargo, reproducir estos resultados (Nebrada et al., 2005; Fernández et al., 2006).

Inoculación de los potyvirus por pulgones en el proceso de transmisión

La característica de no persistencia de la transmisión de los potyvirus hizo pensar que los pulgones transportaban las partículas virales a modo de contaminantes del estilete y que la inoculación se efectuaba pasivamente durante las inserciones de prueba realizadas por el vector en la planta. Esta hipótesis se denomina de «transporte en estilete» (Kennedy et al., 1962) y sugiere que las partículas virales quedan fijadas al extremo del estilete del pulgón durante su alimentación, de modo que éstos actúan a modo de «agujas voladoras» portadoras del virus. Otra hipótesis, llamada de «ingestión-egestión»

(Harris, 1977), implica un papel activo del pulgón, a modo de «jeringuillas voladoras», en la adquisición y liberación del virus. Esta teoría presume que los viriones son adquiridos cuando los pulgones ingieren el contenido celular en el proceso de prueba del alimento para posteriormente inocularlo por regurgitación en la planta sana. La regurgitación podría ser funcional para el pulgón con el fin de eliminar ciertos orgánulos celulares (cloroplastos, etc.) que podrían bloquear la entrada del canal alimenticio o bien componentes nocivos presentes en el extracto de la planta. Una hipótesis alternativa denominada de «ingestión-salivación» (Martín et al., 1997) supone un papel activo de la salivación en el proceso de liberación del virus. Teniendo en cuenta que el canal salivar y el alimenticio se fusionan en el estilete a 2-8 μ m de su extremo distal, se ha sugerido que durante el proceso de salivación podrían inocularse los virus retenidos en el punto donde se unen ambos canales. En virtud de la rapidez con que se produce la inoculación y del bajo número de partículas virales necesarias para una transmisión eficiente esta hipótesis resulta factible. No obstante, los patrones de distribución en el estilete de viriones marcados demuestran que la mayor parte de los virus retenidos se localizan más allá del punto de fusión de los dos canales y por tanto no se puede desechar la hipótesis de «ingestión-egestión» como mecanismo para explicar la inoculación de los viriones (Nebrada et al., 2005).

Desde el punto de vista molecular no existe ninguna evidencia que explique la liberación del virus del punto de retención en el pulgón. Se especula que la propia actividad proteasa del HC-Pro podría romper su interacción con la CP del virus, si bien también se ha sugerido que el virión se podría liberar del punto de retención en el estilete al desprenderse del extremo amino de su CP, que interaccionaría con el HC-Pro, por digestión con tripsinas tal vez presentes en el contenido salivar (Martín et al., 1997).

Por conclusión, la transmisión por insectos vectores constituye un proceso esencial en el ciclo de vida de gran número de virus, pero a la vez supone un mecanismo de reducción de la diversidad genética de dichos virus, ya que solamente aquellos que cumplan ciertos requerimientos de compatibilidad con el vector serán transmitidos. La estrategia de transmisión de los potyvirus, implicando al HC-Pro a modo de

puente entre el estilote del vector y la partícula viral, permite superar el «cuello de botella» introducido por la transmisión por insectos (Power, 2000). Así, un HC-Pro funcional puede facilitar la transmisión de un virus que codifique un HC-Pro no funcional, permitiendo la existencia de cuasiespecies que de otro modo no existirían, aumentando con ello el polimorfismo de una población viral. Del mismo modo, un HC-Pro funcional puede facilitar la transmisión heteróloga de una especie viral no transmisible, o transmisible por diferentes especies de pulgones vectores, lo cual supone un grave problema para el control de estas virosis en la naturaleza (Nebrada et al., 2005).

El estudio del mecanismo de transmisión mediado por HC-Pro se ha visto facilitado por la aplicación de diversas técnicas moleculares, así como por diversas metodologías incorporadas al análisis de las interacciones entre los factores implicados en el proceso. A pesar de los avances conseguidos, todavía no se ha podido llevar a cabo la resolución de la estructura tridimensional tanto del HC-Pro como de la CP de los potyvirus. El conocimiento del plegamiento de estas proteínas permitiría una interpretación estructural de los resultados ya obtenidos a través del análisis mutacional, abriendo las puertas a nuevas líneas de estudio así como a posibles replanteamientos relacionados con el modo de actuación tanto del HC-Pro como de la CP. Otros aspectos de la transmisión de los potyvirus por pulgones que quedan por resolver se centran en la posible existencia de receptores en el estilote del pulgón, su especificidad y el mecanismo por el cual los virus serían capaces de desligarse de los mismos para pasar a infectar una nueva planta. Los resultados derivados de estos estudios sentarían la base de nuevas estrategias de control para diversas virosis. Así, las interacciones necesarias en el proceso de transmisión podrían verse bloqueadas por medio de modificaciones genéticas en las plantas huésped e incluso en los organismos vectores. Teniendo en cuenta que los potyvirus afectan a gran variedad de cultivos y que son responsables de graves pérdidas económicas en todo el mundo, el estudio del proceso de transmisión y de los posibles mecanismos de control derivados resulta de un interés primordial (Fernández et al., 2006).

Sintomatología

Según Wales, (2008); INFOAGRO (2010) el PVY tiene como hospedantes naturales a la mayoría de los miembros de la familia Solanaceae, en los cuales se describirán los síntomas a continuación. El PVY causa un mosaico con moteado y arrugado de las hojas apicales y un bandeado oscuro de las venas de las hojas totalmente expandidas. El pimiento sufre graves daños por el PVY, especialmente en los climas mediterráneos. Los síntomas en el campo varían sobre todo en relación a la cepa involucrada.

Los síntomas se inician con un aclarado de las nerviaduras de las hojas apicales, que pueden evolucionar pasando a tonos pardos y necrosándose. En estos casos, a veces, hay necrosis del pecíolo con caída de hojas, quedando la planta defoliada,



con necrosis apicales e incluso necrosis externas e internas del tallo. Las plantas pueden rebrotar, apareciendo las hojas con mosaicos en manchas de color verde oscuro-verde claro situados encima de las nervaduras (bandeado de venas, vein banding), incluso en forma de ampollas, de modo que los limbos dejan de ser planos. También se observa necrosis sobre las flores. Sobre los frutos algunas variedades presentan manchas pardo necróticas irregulares hundidas en el pericarpio y también manchas necróticas en los pedúnculos. Esta sintomatología aparece en un amplio número de variedades (Cristal, Cuerno de Cabra, Choricero, Largo de Reus, Morro de Vaca, Morrón, y Najerano). Otras variedades entre las que se encuentran Yolo Wonder y Piquillo no presentan esta sintomatología,

sino que muestran un mosaico con venas bandeadas, con abullonado del limbo (Macek, 2007; Wikipedia, 2008; INFOAGRO 2010).

Otros síntomas que puede producir el PVY sobre pimiento son: enanismo, mosaico severo, deformación de hojas y frutos, que pueden presentarse arrugados, con manchas cloróticas y manchas necróticas, reducción en tamaño de fruto y aborto floral. De todos modos, la severidad de los síntomas depende de la edad de la planta, siendo más susceptibles las plantas jóvenes e intensificándose los síntomas con el frío; además el tamaño de la planta resulta tanto más reducido cuanto más precoz ha sido la infección (INFOAGRO 2010).

Hospederos

Probablemente la mayoría de los hospedantes naturales pertenecen a la familia Solanaceae, pero mecánicamente se ha transmitido el virus a miembros de otras familias, por ejemplo, Amarantaceae, Chenopiaceae, Leguminosae y Compositae. Hasta la fecha se han descrito ya más de 100 especies hospedantes. Plantas arvenses como *Solanum nigrum* L., *S. dulcamara* L., *Portulaca oleracea* L. y *Senecio vulgaris* L., aunque no presentan síntomas, actúan como reservorios naturales en el área mediterránea (Macek, 2007; Biblioteca ACTAF, 2009).

Identificación y diagnóstico

El PVY tiene una elevada respuesta inmunogénica que permite detectar el virus en muy baja concentración utilizando el test de ELISA (Murphy et al., 1998). Las cepas de PVY son bien distintas a otros potyvirus, como el TEV, PVMV y CVMV sobre la base de criterios biológicos, la acción sobre una gama de hospederos y serológicamente, o moleculares. La proteína de la cápsida del PVY presenta un 62 % de secuencia de

homología con la del TEV (Shukla et al., 1988) y el conjunto de potyvirus estudiados por Shukla y Ward (1989) presenta una secuencia de homología que varía del 38 al 71 %.

Según se ha abordado el estudio de los aspectos moleculares que gobiernen la transmisión por pulgones de los potyvirus a través del análisis de las dos proteínas implicadas en este proceso: la proteína de la cápsida (CP) y el factor de adquisición (HC). Se han estudiado las propiedades serológicas de una colección de aislados de pimiento del virus Y y de la patata. Los métodos serológicos y el análisis de la secuencia de aminoácidos de la CP no nos han permitido diferenciar ni entre patotipos 0, 1 y 1-2 ni entre aislados de pimiento con distintas propiedades de transmisión, si bien fue posible discriminar éstos de los aislados de tabaco y patata. El alto grado de homología en la CP de los patotipos de pimiento parece indicar que la capacidad para sobrepasar la resistencia impuesta por los genes *pvr2* de pimiento radica en una región del genoma distinta de la CP. Por otra parte, todos ellos presentan en su CP el triplete DAG implicado en la transmisión de los potyvirus por pulgones. Este dato confirma que la pérdida de transmisibilidad de PVY-0 NAT y -1 es debida a una alteración en su factor HC. El estudio de las propiedades de transmisión vectorial de un aislado perteneciente al patotipo 1-2 (PVY-1-2) mostró que no pudo ser transmitido en experimentos de transmisión por pulgones planta a planta si bien se consiguieron altas frecuencias de transmisión en ensayos de adquisición a través de membranas en presencia de un factor HC heterólogo funcional. Su proteína HC reveló la presencia de dos cambios de aminoácidos con respecto a la de PVY-0 AT (Arg a Gln en posición 89 y Met a Ile en posición 152) que podrían ser los responsables de su pérdida de transmisibilidad. El análisis comparativo entre potyvirus del extremo amino terminal del factor HC reveló la presencia de un dominio altamente conservado rico en residuos de Cys y en el que se encuentran además del motivo KITC conocido por su implicación en la transmisión por pulgones, otros residuos invariables cuyo papel en transmisión es aún desconocido. (Mitidien y Polak, 2005)

Mediante experimentos de mutagénesis dirigida se han creado mutantes en estas posiciones en un clon del genoma completo del virus de grado del tabaco y analizado su efecto sobre el desarrollo

Cultivar tipo	Patotipo		
	PVY – 0	PVY – 1	PVY – 1 – 2
Bastidon/ Yolo Wonder	+	+	+
Yolo Y	-	+	+
Florida VR2	-	-	+
Serrano Veracruz	-	-	-

+ susceptible; - resistente

CLASIFICACIÓN DE PATOTIPOS DE PVY DE PIMIENTO (GEBRE – SELASSIE ET AL., 1985)

de síntomas, la ineffectividad y la transmisibilidad. Todos los mutantes resultaron inefectivos en plantas de tabaco desarrollando síntomas similares a los mostrados por la variedad salvaje TEV-HAT. Los mutantes TEV-P355R y -K358N tenían seriamente afectada su transmisión mientras que los mutantes TEV-G343D, -V345E, -A346H, -I348D y -P355L no pudieron ser transmitidos en ningún experimento. Tan sólo los mutantes TEV-I359M, que reproduce la sustitución presente en el HC del aislado transmisible PVY-0 AT, y TEV-K662G, que afecta a un residuo en posición carboxilo terminal, mostraron niveles de transmisión idénticas al TEV control. La pérdida de transmisibilidad de estos mutantes no se debe a un efecto de las correspondientes mutaciones sobre el nivel de acumulación de proteínas HC y CP en las plantas infectadas (Luján y Acosta, 2005).

Todos los residuos alterados, altamente conservados entre potyvirus, forman parte de una región rica en Cys para la que se supone un papel estructural y/o funcional a través de la formación de estructuras denominadas “dedos de zinc”. Nosotros proponemos, en virtud de la homología con otras proteínas con dedos de zinc, que la región amino terminal del HC de los potyvirus presenta una configuración del tipo C-X8-C-X18-C-X2-C con los residuos de Cys coordinados en el espacio por un ion metálico y discutimos el papel que dicha estructura podría desempeñar en la funcionalidad del factor HC en transmisión. (López y Castro, 2005; Luján y Acosta, 2005).

Mejora genética

Mediante la genética podemos introducir resistencia a este virus en cualquier variedad comercial que nos interese, esto es debido a que la genética del carácter es sencilla, porque de no ser así no se podría realizar. El carácter a transmitir (resistencia) está basado en un locus con dos alelos recesivos (homocigosis). Existen distintas variedades de pimiento resistentes a PVY y otras variedades que son tolerantes: de todas ellas sólo nos interesan las primeras por ser el mecanismo de resistencia un mecanismo genético para hacer frente al virus. Las variedades tolerantes, en cambio, no presentan un mecanismo genético de defensa, sino que presentan unas características propias de la variedad que consiguen que la presencia del virus no afecte a la producción. Aunque se ha encontrado un elevado número de accesiones que presentan

resistencia a determinados aislados de PVY, las utilizadas en el desarrollo de cultivares resistentes son relativamente pocas. La mayoría son variedades poco picantes o de frutos cónicos de *C. annum*. Son numerosas las variedades que presentan resistencia a determinados aislados de PVY (Zarco F1, Aureola F1 y los tipos Agronómico de Brasil, que incluyen el P11, el Mogi das Cruzes, El Casca Grossa y el Avelar), pero pocas son las que se han utilizado para la mejora de variedades sensibles a PVY. El grupo Serrano también se distingue entre los pimientos mexicanos por su alto nivel de resistencia a diferentes patotipos de PVY. También se han encontrado fuentes de resistencia en otras especies del género *Capsicum*: *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum* var. *pendulum*, *C. eximium*, *C. indicum*, *C. flexuosum* y *C. pubescens*, pero estas fuentes de resistencia, por su distancia genética con los pimientos habitualmente cultivados en la Península Ibérica, no han sido muy usadas en la mejora de los cultivares típicos mediterráneos como es el caso que nos ocupa (López y Castro, 2005; Infoagro 2010).

Sobre la naturaleza y genética de la resistencia la situación resulta compleja. Parecen existir dos modelos principales (Luján y Acosta, 2005):

Monogénico recesivo, según una serie alélica. Los alelos de resistencia se dispondrían en el orden jerárquico

$$vy^+ < < vy^1 < vy^2 < vy^{2s}$$

donde < indica no dominante y << muestra el umbral entre los genes susceptibles y resistentes. Recientemente, han revisado la nomenclatura para genes de resistencia a potyvirus proponiendo:

$$pr2^+ = vy^+, pr2^1 = vy^1 \text{ y } pr2^2 = vy^2$$

En relación con los patotipos PVY-0, PVY-1 y PVY-1-2 pueden establecerse 4 grupos de variedades (ver tabla).

Susceptibles a todas las razas del parásito. Su representante típico sería el cultivar Bastidon, o bien, Yolo Wonder, cuyo genotipo es $vy^+ vy^+$ (o $pr2^+ pr2^+$).

Resistentes a PVY-0, cuya resistencia se basa en el gen recesivo vy^1 (o $pr2^1$). Por ejemplo Yolo Y.

Resistentes a las razas PVY-0 y PVY-1, cuya resistencia se basa en el gen recesivo vy^2 (o $pr2^2$). Por ejemplo, Florida VR2.

Resistentes a PVY – 0, PVY – 1 y PVY – 1 – 2, con genotipo $vy^{2s} vy^{2s}$. por ejemplo, Serrano Veracruz.

Oligigénico, con al menos tres genes segregando independientemente. Von Der Pahlen y Nagai (1973) obtuvieron individuos resistentes en descendencias F_2 y F_3 de cruces entre padres susceptibles, opinando que se puede obtener cualquier nivel de resistencia basada en la aditividad de los genes.

Existen varios tipos de mejora, pero el mejor es el retrocruzamiento. La mejora por retrocruzamiento tiene su mayor aplicación en la obtención de variedades resistentes a plagas y enfermedades, fundamentalmente cuando esta resistencia está controlada por genes dominantes o recesivos. Estos genes de resistencia, que normalmente son específicos para controlar una o pocas razas del patógeno, son vulnerables frente a la aparición de una nueva raza del patógeno. La mejor solución a este problema sería obtener una variedad que tuviese todos los genes de resistencia posibles contra las razas conocidas del patógeno, generando variedades de resistencia múltiple. Para realizar todo el proceso de mejora (a excepción de los ensayos agronómicos que se realizarán en las condiciones de cultivo verdaderas, es decir, en cultivo al aire libre) se realizará el cultivo en las condiciones lo más controladas que sea posible y sin que se vea afectado el desarrollo del programa por los ciclos estacionales anuales y por tanto puedan obtenerse las generaciones sucesivas de la mejora en el menor tiempo posible: se escoge un sistema de cultivo forzado (en invernadero) que permitirá controlar gran parte de los factores agronómicos. Se espera poder afrontar los costes derivados de la instalación del cultivo forzado con los resultados obtenidos del programa de mejora (López y Castro, 2005; Luján y Acosta, 2005).

El avance en el ámbito de la biotecnología ha repercutido en dos aspectos en relación a los virus. Primero, se han diseñado métodos altamente eficientes, específicos y confiables para la detección e identificación de enfermedades virales en frutales. La prueba de la reacción en cadena de la polimerasa, comúnmente conocida como PCR (Polimerase chain reaction), permite identificar virus con casi un 100% de confiabilidad y a la vez, ha permitido desarrollar formas de clasificación de estos patógenos basadas en la composición de su genoma. Segundo, la transformación genética de plantas ha permitido desarrollar plantas con características de inmunidad

frente a la infección viral. Existen, ya en la actualidad, comercialmente, plantas resistentes a diferentes virus. Sin duda, en el futuro, la biotecnología jugará un rol importante en el conocimiento y control de estas enfermedades (López y Castro, 2005).

Control de la enfermedad

La lucha preventiva contra estas virosis se basa en reducir el nivel de inóculo existente del virus, impedir la transmisión a través de los vectores o utilizar variedades resistentes (Pérez, 2004; Mitidien y Polack, 2005).

En relación con la reducción del inóculo se recomiendan las siguientes medidas:

1. Eliminación de las malas hierbas que crecen tanto en el cultivo como alrededor de la parcela, para disminuir las fuentes de virus, así como de sus vectores.
2. Eliminación de plantas infectadas.

En relación con el control de la transmisión por áfidos se recomienda (Sáez, 1993):

1. Protección de los semilleros con mallas antipulgón para evitar las contaminaciones precoces.
2. Pulverizar con aceites minerales a bajas concentraciones para reducir la frecuencia de transmisión de áfidos.
3. Usar superficies reflectantes que puedan reducir la expansión del vector.
4. Usar trampas adhesivas (láminas pegajosas amarillas) para atrapar los vectores.
5. Adelantar o retrasar la fecha de plantación. Controlar químicamente los áfidos. La eficiencia de los tratamientos es normalmente insuficiente.

En relación al control del virus (Pérez, 2004), en el caso del PVY los métodos indirectos no son suficientemente eficaces debido a la no persistencia del virus en el vector, siendo el método más eficaz la utilización de variedades resistentes. No obstante, a continuación se detallan los métodos de control más importantes:

1. Emplear “plántulas” procedentes de semilleros autorizados y conservar durante un año el Pasaporte Fitosanitario.
2. En el caso de semillas, deberán tener asimismo el Pasaporte Fitosanitario, estar registradas y mantener el envase etiquetado un año.

3. Eliminación de las malas hierbas que crecen tanto en el cultivo como alrededor de la parcela (1 m), para disminuir las fuentes de virus, así como de sus vectores. Sin embargo, a veces no es fácil el control total de malas hierbas o, simplemente, la parcela está descuidada. No debe olvidarse que algunas malas hierbas pueden transmitir el virus por las semillas, pudiendo así perpetuar el inóculo.
4. Eliminación de plantas infectadas y las colindantes al inicio del cultivo, antes del cuaje y, posteriormente, a criterio técnico, transportándolas en camiones herméticos a plantas de tratamiento para su destrucción inmediata.
5. Protección de los semilleros con mallas antipulgón para evitar contaminaciones precoces.
6. Pulverizar con aceites minerales a bajas concentraciones para reducir la frecuencia de transmisión de áfidos.
7. Usar superficies reflectantes que puedan reducir la expansión del vector.
8. Usar trampas cromotrópicas para seguimiento y captura de insectos vectores.
9. Cultivar patatas cerca del pimiento, actuando como un cultivo barrera. También puede ser útil disponer de cultivos trampa para insectos vectores en campos cercanos a los de producción, en donde puedan ser eliminados.
10. Adelantar o retrasar la fecha de plantación. Se trata de evitar que coincida la época de mayores poblaciones del pulgón con el estado juvenil de la planta, momento en que ésta es más sensible a la infección, o con periodo de formación de fruto, lo cual puede tener graves consecuencias. Sin embargo, este método tiene inconvenientes, ya que, al tratar de desplazar la época de cultivo en una zona puede provocar problemas adicionales como por ejemplo dificultades en el cuajado o maduración.
11. Controlar los pulgones mediante tratamientos químicos, alternando las aplicaciones con productos de distintos grupos.
12. La estructura del invernadero deberá mantener una hermeticidad completa que impida el paso de insectos vectores.
13. Colocación de malla en las bandas y cubiertas del invernadero con una densidad mínima de 10

x 20 hilos/cm², excepto en aquellos casos en que no permita una adecuada ventilación.

14. Colocación de doble puerta o puerta y malla, de igual densidad a la anterior, en las entradas del invernadero.

Trabajos realizados en Cuba

En el 2007 se presentó una tesis para obtener su grado científico con el título: Obtención de líneas de pimiento (*Capsicum annuum*) progenitoras de híbridos F1 a partir del estudio de cuatro subpoblaciones, donde en ella se informa lo concerniente al manejo de las líneas por selección genealógica y autofecundación en las generaciones C7 y C8 (1999-2000) provenientes de las subpoblaciones LIRAV, LIRAP, LIRAE y LIRAC, resistentes a los virus TMV, PVY, TEV y CMV, respectivamente; así como al comportamiento de los híbridos obtenidos a partir de las mismas. Para ello se evaluaron 27 líneas que habían mostrado en el campo los valores más bajos de severidad e incidencia a los virus TMV, PVY, TEV y CMV en los primeros ciclos de selección (C0-C6) en las diferentes subpoblaciones estudiadas (Depestre y Rodríguez, 2004). La selección de las líneas en cada subpoblación se hizo de acuerdo a las resistencias mostradas por éstas en el campo, bajo condiciones de infección viral natural, las cuales fueron posteriormente comprobadas en el laboratorio en condiciones controladas (Palloix, 2000 Com. personal).

En el trabajo se evaluaron los caracteres agronómicos correspondientes. En la generación C8 de cada subpoblación se seleccionaron líneas como futuras progenitoras, ellas fueron las que presentaron los valores más altos en los caracteres agronómicos: número de frutos por planta, peso promedio del fruto y rendimiento por planta y que resultaron resistentes a los virus estudiados. Las pruebas de comprobación de la resistencia a los virus enunciados se efectuaron en los laboratorios de la Unité de Génétique et d'Amélioration des Fruits et Légumes del INRA, Montfavet, en Francia, quien aportó los resultados. La subpoblación LIRAT fue ensayada para la resistencia al TMV P(0) o común a dos temperaturas, teniendo en cuenta las condiciones de Cuba; en LIRAP se buscó la resistencia al PVY p(1,2) pues los genes que confieren la resistencia a este patotipo la confieren también a los otros patotipos del virus (Palloix, 1992 Com. personal). La subpoblación LIRAE fue ensayada para la resistencia

ACCESIONES	N.frutos/planta	Px de frutos
77 Cu 3 (6)	9.2	200.0
81 Cu 7 5)	10.5	200.0
106 LCu20 (1)	6.8	202.0
32 LCu 67 (9)	11.6	203.3
55 Cu 32 (6)	8.14	205.8
79 Cu 5 (3)	9.4	206.6
34 LCu 70 (10)	13.6	210.0
45 Cu 28 (4)	5.8	210.0
46 Cu 28 (6)	7.4	210.0
86 Cu 9 (8)	7.6	210.0
96 Cu13 (7)	7.7	210.0
30 Cu 66b (7)	10.8	212.0
56 LCu 33 (1)	8.18	212.2
24 Cu 63 (7)	6.4	215.0
94 Cu13 (5)	10.0	215.0
47 Cu 29 (5)	7.2	216.0
50 Cu 30 (2)	9.2	216.0
72 Cu 1 (3)	10.8	217.5
53 Cu 31 (5)	7.9	218.4
54 Cu 32 (5)	8.0	218.9
57 LCu 33 (4)	6.25	220.0
103 LCu17 (3)	10.8	220.0
33 LCu 70 (2)	10.6	225.0
25 Cu 64 (2)	7.25	223.3
74 Cu 2 (4)	7.25	223.3
92 Cu12 (5)	9.6	223.3
52 Cu 31 (5)	7.9	224.5
31 LCu 67 (4)	12.4	230.0
51 Cu 31 (1)	8.4	230.0
95 Cu13 (6)	7.4	230.0
70 LCu 45 (1)	9.0	232.5
12 Cu50 (5)	8.4	235.0
63 LCu 37 (4)	8.0	235.0
21 Cu 57 (2)	7.0	237.5
66 LCu 40 (1)	11.8	240.0
75 Cu 2 (10)	6.5	240.0
102 LCu17 (3)	9.4	243.3
15 Cu 54 (2)	9.4	245.0
43 Cu 27 (8)	8.0	245.0
87 Cu 9 (10)	8.2	247.5
80 Cu 7 (4)	9.6	250.0
97 Cu13 (10)	9.0	253.3
109 LB (T)	15.2	256.0
59 LCu 34(9)	5.75	257.5
62 LCu 37 (2)	6.67	260.0
76 Cu 3 (4)	7.6	260.0
18 Cu 55 (10)	8.4	265.0
42 Cu 25 (8)	11.5	265.0
49 Cu 29 (8)	8.2	266.6
71 LCu 45 (5)	8.6	275.0
65 LCu 39 (6)	10.4	284.0
105 LCu18 (9)	8.4	287.5
104 LCu18 (3)	9.2	290.0
10 Cu 49 (8)	7.6	300.0
22 Cu 57 (6)	5.8	300.0
20 Cu 56 (1)	6.4	307.5
40 Cu 24 (9)	16.2	310.0
44 Cu 27 (10)	8.7	330.0
64 LCu 39 (2)	5.0	336.6
17 Cu 55 (1)	9.0	340.0
99 Cu14 (4)	9.6	350.0

al TEV (CAU4), por considerarse el aislado más agresivo en el pimiento en Cuba (Depestre, 2002) y en LIRAC, se buscaron las resistencias al CMV Fulton y CMV/N al nivel de plántulas, la primera provoca mosaico y la segunda necrosis en las plantas. Las mejores líneas de cada subpoblación, seleccionadas en C8 y autofecundadas, se utilizaron en la creación de híbridos F1 según esquemas de cruzamientos en los que intervinieron otros progenitores de interés (Rodríguez et al., 2008).

Como conclusión de ese trabajo Rodríguez et al., (2008), se relacionó que para el logro de multiresistencia y adaptación climática en el pimiento es válida la estrategia basada en el manejo de fuentes de resistencia existentes en los recursos genéticos disponibles, así como del estudio de los parámetros genéticos - estadísticos y el modo de herencia con vista a determinar tanto los efectos aditivos, como los dominantes en los caracteres cuantitativos. Se seleccionaron líneas multiresistentes y adaptadas como progenitoras de híbridos F1 de pimiento como son: Cu 16 (PVY y TMV); Cu 28 (PVMV y TMV); Cu 32 (TEV y TMV) y Cu 103 (CMV y TMV). Creación por primera vez en Cuba de híbridos F1 de pimiento para cultivo protegido.

A partir del 2009 hasta el 2012 se aprobó un Proyecto de Investigación sobre el Mejoramiento genético del pimiento para la resistencia a enfermedades virales, con el objetivo de lograr la creación varietal sostenible y competitiva en el pimiento, mediante la obtención de cultivares de pimiento con resistencia a potyvirus (TEV, PVY) y al virus del bronceado del tomate (TSWV) y con buena calidad del fruto.

Se han realizado algunos análisis y procesamientos estadísticos de cada una de las evaluaciones realizadas a los 110 accesiones de pimiento. Se seleccionó por los resultados en los parámetros de producción (número de frutos por plantas y peso promedio de los frutos), las siguientes accesiones:

Existen 18 accesiones con respecto al peso promedio de los frutos por encima del valor del testigo de 256 gramos, llegando hasta un valor de 350 gramos (99 Cu 12 pta 4). Haciendo referencia al número de frutos por planta 13 accesiones se mostraron por encima de los 10 frutos, lográndose alcanzar 16.2 gramos en la accesión 40 Cu 24 pta 9. El testigo mostró 15.2 gramos.

Conclusiones

Esta investigación que parte de la utilización de poblaciones locales de diferentes orígenes, ha revelado una gran diversidad de reacciones del hospedero frente al virus, reacciones diversas por los mecanismos de resistencias puestos en juego, su espectro de acción y sudeterminismo genético. Han sido identificadas las resistencias por casi inmunidad, determinada por los alelos recesivos y razas específicas (Greenleaf, 1986), de reacciones de hipersensibilidad generalizada o localizada con determinismo monogénico dominante (Dogimont et al., 1995), al igual que resistencias parciales con determinismo oligogénico (Caranta et al., 1996), diversidad de fuentes de resistencias a los potyvirus: resistencias recesivas por casi inmunidad, resistencia dominante por hipersensibilidad y resistencias cuantitativas (Palloix y Daubeze, 1998). Además, las recombinaciones realizadas entre estas resistencias muestran que las interacciones complementarias entre estos genes de origen diverso pueden ser explotadas a fin de agrandar el espectro de acción de resistencia frente a nuevos patotipos o serotipos. 

Referencias bibliográficas

- Abcagro
2010 El virus Y de la papa en el pimiento. Informe Agricultura. Disponible en: www.abcagro.com/hortalizas/informes/pvy.asp. (Consultado el día 23 de agosto del 2010).
- Andrejeva J., Puurand U, Merits A., Rabenstein F., Järvekülg L., Valkonen J.
1999 Potyvirus helper component-proteinase and coat protein (CP) have coordinated functions in virus-host interaction and the same CP motif affects virus transmission and accumulation. *Journal of General Virology* 80, 1133-1139.
- Biblioteca ACTAF
2009 Por una Agricultura Sostenible sobre bases Agroecológicas. Guías técnicas por cultivos. 15p. Botánica-on-line
2008 Propiedades de los pimientos (En Línea). Disponible en: <http://www.botanica-on-line.com/pimientos.html>. (Consultado el día 8 de enero del 2009).
- Caranta Carole, Palloix A, Pochard E.
1996. A complementation of two genes originating from susceptible *Capsicum annuum* lines confers a new and complete resistance to Pepper Veinal Mottle Virus. *The American Phytopathological Society*. 86 (7): 739 – 743.
- Concepción Jordá y Lacasa, A.
1991 Tospovirus. En la frontera entre el virus de plantas y virus de animales. Disponible en: www.terralia.com/articulo.php?recordID=2209. (Consultado el día 24 de abril 2010).
- Colavita, M.
2009 Características de aslamientos del Virus Y de la Papa presentes en Argentina. Disponible en: www.inta.gov.ar/balcarce/ResumenesPG/...Resumen-COLAVITA_mar09.doc. (Consultado en marzo del 2011).
- Depestre, T. y Rodríguez, Yaritza
2004 Impacto de cultivares de pimiento (*Capsicum annuum* L). En: CD-ROM Cultivo protegido de las hortalizas en condiciones tropicales. II Curso Internacional. Conferencias, del 23 al 27 de febrero. La Habana, Liliانا, Cuba. ISBN: 959-7111-21-7, 2da edición.
- Depestre, T.
2002 Construcción de multirresistencia a enfermedades virales y adaptación al trópico en genotipos de pimiento (*Capsicum annuum* L.) y su aplicación. Disponible en: http://www.cuba.cu/ciencia/acc/agrarias_2002_resumen.htm. (Consultado el día 23 de mayo del 2008).
- Díaz, B., Biurrún, R., Moreno A., Nebreda, M., Fereres A.
2006 Impact of Ultraviolet-Blocking Plastic Films on Insect Vectors of Virus Diseases Infesting Crisp Lettuce. *Hortscience* 41(3): 711-716.
- Dogimont, C. Veronique, L.; Carolina C. et al.
1995 Genetics analysis of broad spectrum resistance to potyviruses in haploidiploid progenies of pepper (*Capsicum annuum*). *Euphytica* (in press).
- Fernández-Calvino, L., López-Abella, D., López-Moya, J. and Fereres A.
2006 Comparison of Potato virus Y and Plum Pox Virus transmission by two aphid species in relation to their probing behaviour. *Phytoparasitica* 34: 315-324.
- García D.

- 2006 Diversidad genética de Capsicum en Colombia. Proyecto de tesis doctoral. Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, 86 p. (en proceso).
- García J., Laín S., Cervera M., Riechmann J., Martín M. 1990 Mutational analysis of plum pox potyvirus processing by the NIa protease in *Escherichia coli*. *Journal of General Virology* 71, 2773-2779.
- Gebre-Selassie, K.; Marchoux, G.; Delecolle, B.; Pochard, E. 1985 Variabilité naturelle des souches du virus Y de la pomme de terre dans les cultures de piment du Sud – Est de la France. *Caractérisation et classification en pathotypes*. *Agronomie* 5 (7): 621 – 630.
- Govier D., Kassanis B. 1974a Evidence that a component other than the virus particle is needed for aphid transmission of potato virus Y. *Virology* 57, 285-286.
- Greenleaf, W. 1986 Pepper breeding. *Breeding Vegetable Crops*. Basseh; M. J. (ed), AVI Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut, - 134. p
- Harris K. 1977 An ingestion-egestion hypothesis of noncirculative virus transmission. En: *Aphids as Virus Vectors*. Harris, K.F., Maramorosch, K., ed. Academic Press, New York, pp. 165-220.
- Hooks, C. and Fereres A. 2006 Protecting crops from non-persistently aphid-transmitted viruses: A review on the use of barrier plants as a management tool. *Virus Research* 120: 1–16
- Infoagro 2010 El Virus Y de la Papa. Agroinsumos Granex, CA. Disponible en: www.granex.com.ve/...Virus.../Virus...Pimienta3n/idCategoria/. (Consultado el día 22 de abril del 2011).
- Infojardín 2009 Plagas en el pimiento. (En Línea). Disponible en: <http://articulos.infojardin.com/huerto/cultivo/pimiento-pimientos.html,2p> (Consultado el día 8 de enero de 2009).
- Kassanis B. 1961 The transmission of potato aucuba mosaic virus by aphids from plants also infected by potato viruses A or Y. *Virology* 13, 93-97.
- Kasschau K., Cronin S., Carrington J. 1997 Genome amplification and long-distance movement functions associated with the central domain of tobacco etch potyvirus helper component-proteinase. *Virology* 228, 251-262.
- Kennedy J., Day M., Eastop V. 1962 A conspectus of aphid as vector of plant viruses. Commonwealth Institute of Entomology, London.
- Laín S., Riechmann J., García J. 1989 The complete nucleotide sequence of plum pox potyvirus RNA. *Virus Research* 13, 157-172.
- Legavre T., Maia I., Casse-Delvar F., Bernardi F., Robaglia C. 1996 Switches in the mode of transmission select for or against a poorly aphid-transmissible strain of potato virus Y with reduced helper component and virus accumulation. *Journal of General Virology* 77, 1343-1347.
- López-Abella D., Pirone T., Mernaugh R., Johnson M. 1981 Effects of fixation and helper component on the detection of potato virus Y in alimentary tract extracts of *Myzus persicae*. *Phytopathology* 71, 807-809.
- López-Moya J., García J. 1999 Potyviruses (Potyviridae). En: *Encyclopedia of Virology*, Second edition, Volume 3. Webster, RG, Granoff, A., ed. Academic Press, London, pp 1369-1375.
- López, P. y Castro, H. 2005 Al rescate de la diversidad genética del chile (*Capsicum* spp) en Oaxaca, México. *Mejoramiento y recursos genéticos*. 2da Convención Mundial de Chile. 253-258.
- López-Moya J., García J. 1999 Potyviruses (Potyviridae). En: *Encyclopedia of Virology*, Second edition, Volume 3. Webster, RG, Granoff, A., ed. Academic Press, London, pp 1369-1375.
- Luján, M. y Acosta, G.F. 2005 Actividades recientes de mejoramiento genético en chile Jalapeño en Chihuahua, México. *Mejoramiento y recursos genéticos*. 2da Convención Mundial de Chile. 259-268.
- Luis, M.; Gil Ortega, R. 1986 Biological characterization of PVY as isolated from pepper in Spain. VIth Eucarpia Meeting

- on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant. Zaragoza 21 – 24 October. 183 – 188.
- Maia I., Bernardi F.
1996 Nucleic acid-binding properties of bacterially expressed potato virus Y helper component-proteinase. *Journal of General Virology* 77, 869-877.
- Marathe R., Anandalakshmi R., Smith T., Pruss G., Vance V.
2000 RNA viruses as inducers suppressors and targets of post-transcriptional gene silencing. *Plant Molecular Biology* 43, 295-306.
- Macek, M.
2007 Los ajíes, pimientos, chiles o morrones. (En Línea). Disponible en: <http://www.zonadiet.com/comida/aji.html>, 1p, (Consultado el día 8 de enero del 2009).
- Martínez-García B.
2000 Análisis molecular de las proteínas virales implicadas en la transmisión por pulgones del virus de la sharka (plum pox virus). Tesis doctoral. Universidad Complutense, Madrid.
- Martínez, C.
2007 Pimientos, Fuentes de vitamina C y Analgésico/ pimientos htm. Mundo de las plantas. Disponible en: <http://wwwbotanical-online.com/piientos.htm>. (Consultado el día 8 de enero del 2009).
- Martín B., Collar J., Tjallingii W., Fereres A.
1997 Intracellular ingestion and salivation by aphids may cause the acquisition and inoculation of non-persistently transmitted plant viruses. *Journal of General Virology* 78, 2701-2705.
- Merits A., Guo D., Saarma M.
1998 VPg, coat protein and five non-structural proteins of potato A potyvirus bind RNA in a sequence-unspecific manner. *Journal of General Virology* 79, 3123-3127.
- Mitidien, M. y Polack, L.A.
2005 Guía de monitoreo y reconocimientote plagas, enfermedades y enemigos emergentes de tomate y pimiento. Estación experimental Agropecuaria. San Pedro. INIA, Buenos Aires, Argentina.
- Moreno, A., Palacios, I., Blanc, S., Fereres, A.
2005 Intracellular salivation is the mechanism involved in the inoculation of Cauliflower mosaic virus by its major vectors, *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 98(6): 763-769.
- Murphy, J. ; Blanth, K.; Livingstone, V. and Jahn, M.
1998 Genetic mapping of the *pvr1* locus in Capsicum and evidence that distinct potyvirus resistance loci control responses that differ at the cellular and whole plant level. *Molecular Plant Microbe Interactions*. 11: 943 – 951.
- Nagai, H.; Costa, A.
1972 Four new pepper varieties resistant to virus Y in Brasil. I Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant. Sept. 1971, Torino (Italia): 283 – 287.
- Nebreda, M.; Michelena, J.; Fereres, A.
2005 Seasonal abundance of aphid species on lettuce crops in Central Spain and identification of their main parasitoids. *Z. Pflanzenk. Pflanzen. Journal of Plant Diseases and Protection* 112(4): 405-415.
- Palloix, A. and Daubeze, A. M.
1998 Vegetales franco cubanos L´echo de la havane (19): 4 – 5.
- Pasko, P.
1993 A study on resistance to potato virus Y (PVY). Tesis del CIHEAM. Zaragoza.
- Pérez, Nilda.
2004 Manejo Ecológico de Plagas. CEDAR. Impreso en Unidad de Producciones Graficas del MIREX, Ciudad Habana, Cuba.
- Pirone T., Blanc S.
1996 Helper-dependent vector transmission of plant viruses. *Annual Review of Phytopathology* 34, 227-247.
- Pollotró, A.
2010 Clasificación de los virus. Fraticultura Moderna. Disponible en: wwwbpm.uasd.edu.do/download. (Consultado el día 24 de abril del 2011).
- Power A.
2000 Insect transmission of plant viruses: a constraint on virus variability. *Current Opinion in Plant Biology* 3, 336-340.
- Robaglia C., Durand-Tardif M., Tronchet M., Boudazin G., Astier-Manifacier S., Casse Delbart F.
1989 Nucleotide sequence of potato virus Y (N strain) genomic RNA. *Journal of General Virology* 70, 935-947.

- Rodríguez, Y., T. Depetre y Olimpia Gómez.
- 2008 Eficiencia de la selección en líneas de pimiento (*Capsicum annuum* L.), provenientes de cuatro sub-poblaciones, en caracteres de interés productivo. *Revista Latinoamericana en Ciencias de la Agricultura y Ambientales. Ciencia e Investigación Agraria, Artículos de investigación*. 35(1): 37-50. 2008. Facultad de Agronomía e ingeniería Forestal, Pontificia Universidad Católica de Chile. ISBN: 0304-5609.
- Roger J., Satendra k. and Allison Mackie.
- 2003 Potato Y Virus. Factsheet. Department of Agriculture. ISSN 1443-7783. No 02/2003.
- Rojas M., Zerbini F., Allison R., Gilbertson R., Lucas W.
- 1997 Capsid protein and helper component-proteinase function as potyvirus cell-to-cell movement proteins. *Virology* 237, 283-295.
- Sáez, E.
- 1993 Enfermedades producidas por virus en pimiento. *Hortofruticultura* 5: 29 – 36.
- Salomon R., Bernardi F.
- 1995 Inhibition of viral aphid transmission by the N-terminus of the maize dwarf mosaic virus coat protein. *Virology* 213, 676-679.
- Shi X., Miller H., Verchot J., Carrington J., Vance V.
- 1997 Mutations in the region encoding the central domain of helper component-proteinase (HC-Pro) eliminate potato virus X/potyviral synergism. *Virology* 231, 35-42.
- Shukla, D.; Ward, C.
- 1989 Structure of potyviruses coat proteins and its applications in the taxonomy of the potyvirus groups. *Adv. Virus Res.* 36: 273 – 314.
- Shukla D., Strike P., Tracy S., Gough K., Ward C.
- 1988 The N and C termini of the coat protein of potyviruses are surface-located and the N terminus contains the major virus-specific epitopes. *Journal of General Virology* 69, 1497-1508.
- Smith, P. G.
- 1974 Resistance to the tobacco etch virus in peppers. II Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum. 1 – 4 July 1974. Budapest: 127 – 135.
- Thomas, J.; Persley, D.; McGrath, D.; Hibberd, A.
- 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 Vegetable Research and Development Center (AVRDC), Shanhua, Taiwan»: 250 – 259.
- Trigiano, R., Windham, M., Windham, A.
- 2004 Virus Y de la papa. *Plant Pathology*. CRC Press, New York. ISBN: 0-8493-1037-7.
- Van Regenmortel, M.; Fauquet, C.; Bishop, D.; Carstens, E.; Estes, M.; Lemon, S.; Maniloff, J.; Mayo, M.; McGeoch, D.; Pringle, C.; Wickner, R.
- 2000 Virus Taxonomy: the classification and nomenclature of viruses. The seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Virus Taxonomy, VIIth Report of the ICTV*. Academic Press, San Diego, 1167 pp.
- Von der Pahlen, A.; Nagai, H.
- 1973 Resistencia del pimiento (*Capsicum* spp.) a estirpes predominantes del virus Y de la papa en Buenos Aires, el N. O. argentino y en el centro sur del Brasil. *Revista de Investigaciones Agropecuarias. INTA. Serie 5 Patología Vegetal* X (2): 109 – 116.
- YANG L., HIDAKA M., MASAKI H., UOZUMI T.
- 1998 Detection of potato virus Y P1 protein in infected cells and analysis of its cleavage site. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 62, 380-382.
- Wales, J.
- 2008 Capsicum. (En Línea). Disponible en: <http://www.Wikipedia, la enciclopedia libre.htm> (Consultado el día 8 de enero del 2009).
- WATSON M.,
- 1960 Evidence for interaction or genetic recombination between potato viruses Y and C in infected plants. *Virology* 10, 211-232.
- Wikipedia.
- 2008 Capsicum. (En Línea). Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/CapsicumCapsicum>. (Consultado el día 8 de enero del 2009).
- Zeyen, R.; Berger, P.
- 1990 Is the concept of short retention times for aphid – borne nonpersistent plant viruses sound. *Phytopathology* 80 (9): 69 – 71.