

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE  
AGRONOMÍA**



**EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS ELECTROTERAPIA Y  
TERMOTERAPIA PARA LA LIBERACIÓN DE VIRUS PVX Y  
PVY EN TRES VARIEDADES NATIVAS DE PAPA  
(*Solanum spp.*) - AYACUCHO**

**Tesis para obtener el título profesional de:  
INGENIERO AGRÓNOMO**

**Presentado por:  
URIEL FERNANDEZ CUBA**

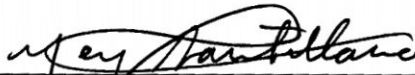
**AYACUCHO - PERÚ  
2015**

Tesis  
Ag 1127  
Fer  
Ej. 2

**"EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS ELECTROTERAPIA Y  
TERMOTERAPIA PARA LA LIBERACIÓN DE VIRUS PVX Y PVY EN  
TRES VARIETADES NATIVAS DE PAPA (*Solanum spp.*) AYACUCHO -  
2015"**

Recomendado : 11 noviembre de 2015

Aprobado : 17 de diciembre de 2015



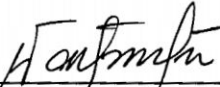
---

**Dra. NERY LUZ SANTILLANA VILLANUEVA**  
Presidente del Jurado



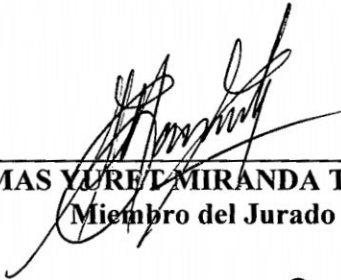
---

**MSc. GERMAN FERNANDO DE LA CRUZ LAPA**  
Miembro del Jurado



---

**Ing. WALTER AUGUSTO MATEU MATEO**  
Miembro del Jurado



---

**Blgo. TOMAS YUREL MIRANDA TOMASEVICH**  
Miembro del Jurado



---

**Dr. ANTONIO JERÍ CHÁVEZ**  
Decano de la Facultad de Ciencias Agrarias

## DEDICATORIA

A mi querida madre. Gladys Cuba Quispe, de quien he recibido siempre todo el apoyo y cariño, y lo más importante, sus bendiciones. Gracias por todo madre y que Dios la bendiga siempre.

A mi papá, Erasmo Cuba Avalos, por lo que representa para mí, un gran ejemplo a seguir, siempre lo tengo en mi mente y mi corazón, gracias por todo papá.

A mi abuela, Patrocinia Quispe Galindo, por ser la persona que me cuidó, formó y apostó por mí, gracias por toda mamá.

Una dedicatoria especial a mis queridos sobrinos Emilsen, Wendy, Lincolns, Piero, Tiago y Yamil.

A mi tío, Oscar P. Cuba Quispe, por apoyarme cuando no podía y corregirme para ser un hombre de bien, gracias por todo tío.

A mis hermanos, Maribel y José Antonio por estar siempre conmigo en las buenas y en las malas, para salir adelante juntos.

A mis seres queridos, Zuliana, Thalía y Wilfard. Quienes son la razón de mi vida, por ellos siempre trato de superarme y seguir adelante.

Uriel.

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Formación profesional de Agronomía “Alma Mater” de mi formación profesional.

Al M. Sc. Ing. Germán De la Cruz Lapa, gestor y asesor del presente trabajo de investigación, por sus sugerencias impartidas en la ejecución y culminación de este trabajo.

Al laboratorio de Genética y Biotecnología Vegetal- EFPA- FCA- UNSCH por facilitarme los equipos e insumos necesarios para realizar el presente trabajo de Tesis.

Mi sincero agradecimiento a la Asociación de Productores Agropecuarios la Andina de Marcaya, por haber financiado la presente tesis.

A mis profesores de la Escuela de Formación Profesional de Agronomía – UNSCH por transmitirme sus conocimientos y experiencias a lo largo de mi vida estudiantil.

## INDICE

	Pag.
Dedicatoria	ii
Agradecimientos	iii
Índice	iv
Introducción	01

### CAPITULO I

#### REVISION BIBLIOGRAFICA

1.1	ORIGEN DE LAS PAPAS NATIVAS	05
1.2	CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	06
1.3	DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	06
1.4	IMPORTANCIA DEL CULTIVO	08
1.4.1	IMPORTANCIA ECONÓMICA	08
1.4.2	IMPORTANCIA ALIMENTARIA	09
1.5	VIRUS	10
1.5.1	IMPORTANCIA DE LOS VIRUS	10
1.5.2	VIROSIS EN PAPAS NATIVAS	11
1.5.3	VIRUS QUE INFECTA LAS PAPAS NATIVAS	11
1.5.4	IMPORTANCIA DE LOS VIRUS DE LAS PAPAS NATIVAS	12
1.5.5	CLASIFICACIÓN DE LOS VIRUS DE PAPAS NATIVAS	14
1.5.6	CARACTERÍSTICAS DE LOS VIRUS DE PAPAS NATIVAS	14
1.5.7	SINTOMATOLOGÍA CAUSADA POR LOS VIRUS DE PAPAS NATIVAS	16
1.5.8	TRANSMISIÓN DE LOS VIRUS	16
1.5.9	TRANSMISIÓN POR PROPAGACIÓN VEGETATIVA	17
1.5.10	TRANSMISIÓN POR SEMILLA	17
1.5.11	TRANSMISIÓN POR INSECTOS	18
1.5.11.1	TRANSMISIÓN NO PERSISTENTE	18
1.5.11.2	TRANSMISIÓN PERSISTENTE	19
1.5.11.3	ESPECIES DE ÁFIDOS VECTORES DE VIRUS DE PAPA	20
1.5.12	DIAGNÓSTICO E IDENTIFICACIÓN DE VIRUS	20

1.5.13	PLANTAS INDICADORES	21
1.5.14	SÍNTOMAS	21
1.5.15	INCLUSIONES VIRALES	21
1.6	PRUEBAS SEROLÓGICAS	22
1.6.1	MICROSCOPIA ELECTRÓNICA	23
1.6.2	TÉCNICAS MOLECULARES	23
1.7	MÉTODOS DE CONTROL DE VIRUS	24
1.7.1	QUIMIOTERAPIA	24
1.7.2	TERMOTERAPIA Y CULTIVO DE TEJIDOS	24
1.7.3	MEJORAMIENTO GENÉTICO	28
1.7.4	ELECTROTERAPIA	29
1.7.4.1	LA ELECTROTERAPIA EN EL CONTROL DE LOS VIRUS VEGETALES	30
1.7.4.2	EFECTO DE LA CORRIENTE ELÉCTRICA SOBRE LOS TEJIDOS	30
1.7.4.3	ACCIÓN PRIMARIA DE LA CORRIENTE ELÉCTRICA DIRECTA	32
1.7.4.4	ACCIÓN PRIMARIA DE LA CORRIENTE ELÉCTRICA ALTERNA	33
1.7.4.5	ELECTRODOS	33
1.7.4.6	USO DE LAS CORRIENTES ELÉCTRICAS EN FITOPATOLOGÍA	34
1.7.4.7	EFECTO DE LA CORRIENTE ELÉCTRICA EN LA ELIMINACIÓN DE VIRUS	35
1.8	INACTIVACIÓN TÉRMICA DE LOS VIRUS	36
1.9	ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	38

## **CAPITULO II**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

2.1	LUGAR DEL EXPERIMENTO	41
2.1.1	UBICACIÓN	41
2.1.2	DURACIÓN DEL EXPERIMENTO	41

2.1.3	EQUIPOS	42
2.2	MATERIAL GENÉTICO	43
2.3	DISEÑO EXPERIMENTAL	45
2.4	INSTALACIÓN Y CONDUCCIÓN DEL EXPERIMENTO	46
2.4.1	RUPTURA DEL PERIODO DE REPOSO	46
2.4.2	SIEMBRA DE TUBÉRCULOS SELECCIONADOS EN MACETEROS	47
2.4.3	INOCULACIÓN VIRAL	48
2.4.4	APLICACIÓN DE TERMOTERAPIA	49
2.4.5	APLICACIÓN DE ELECTROTERAPIA	49
2.4.6	CULTIVO <i>IN VITRO</i>	50
2.4.7	PRUEBA SEROLÓGICA	52

### **CAPITULO III**

#### **RESULTADOS Y DISCUSION**

3.1	DE LA IDENTIFICACIÓN DE VIRUS EN TRES VARIEDADES NATIVAS DE PAPA, POR LA TÉCNICA SEROLÓGICA DE ELISA	53
3.2	DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LA TERMOTERAPIA Y ELECTROTERAPIA PARA LA LIBERACIÓN DE VIRUS EN PAPAS NATIVAS	57
3.2.1	SOBREVIVENCIA DE PAPAS NATIVAS AL TRATAMIENTO CON TERMOTERAPIA	57
3.2.2	SOBREVIVENCIA DE PAPAS NATIVAS AL TRATAMIENTO CON ELECTROTERAPIA	59
3.2.3	SOBREVIVENCIA DE PAPAS NATIVAS AL TRATAMIENTO CON TERMOTERAPIA Y ELECTROTERAPIA	61
3.2.4	EFICIENCIA DE LA TERMOTERAPIA Y ELECTROTERAPIA	62
3.2.4.1	SOBREVIVENCIA	62
3.2.4.2	LONGITUD FOLIAR	67
3.2.4.3	NUMERO DE ENTRENUDOS	71
3.2.4.4	PORCENTAJE LIBRE DE VIRUS	74

## **CAPITULO IV**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

<b>4.1 CONCLUSIONES</b>	<b>80</b>
<b>4.2 RECOMENDACIONES</b>	<b>81</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>82</b>
<b>REFERENCIA BIBLIOGRAFIA</b>	<b>84</b>
<b>ANEXO</b>	<b>94</b>

## INTRODUCCIÓN

El cultivo de papas nativas (*Solanum spp.*) es importante en nuestro país, se cultiva en varias regiones del país, siendo la región Puno el principal productor. Se puede afirmar que la papa representa uno de los aportes más significativos de Sudamérica para la alimentación humana (Barragan, 2007).

La papa posee los mayores recursos genéticos conocidos para un cultivo, tiene alrededor de 200 especies silvestres con gran diversidad de caracteres y con la ventaja de poder incorporarlos en cultivares mediante cruzamientos y manipulaciones genéticas. Por otra parte, la riqueza enorme del germoplasma cultivado de los Andes está representado por ocho especies cultivadas en una serie poliploide ( $2n= 24, 36, 48$  y  $60$ ), que incluye unas 4000 variedades, además del alto potencial genético de rendimiento y su amplia adaptabilidad bajo diferentes climas lo hace un cultivo muy valioso para contribuir a solucionar los problemas de alimentación (Estrada, 2000). Debido a estas características, en los últimos años ha aumentado el interés de las especies de papa nativa por

su potencial en la agro- biodiversidad, mejorando variedades comerciales, contrarrestando plagas e inclusive en el mercado industrial y farmacéutica. Este interés se ve incrementado debido a la amenaza latente de pérdida de diversidad y variabilidad conocido como “erosión genética” que puede sufrir los cultivos andinos. El factor principal de esta erosión es la presión cultural ejercida sobre los pueblos andinos, que ha conllevado a cambiar muchos de sus hábitos de siembra, el desplazamiento de sus cultivos tradicionales por variedades más comerciales, poca valoración en el mercado de sus productos, la migración de la población joven hacia las capitales, la alta infección por virus y la mayor presión de las plagas y enfermedades (Huamán, 2002).

La utilización de tubérculos-semillas provenientes de plantas infectadas con virus en sucesivas campañas de siembra producen menos tubérculos o estos son más pequeños que de las plantas sanas. Ello conduce a la degeneración del cultivar con pérdidas en los rendimientos superiores al 80%. El agricultor bajo estas condiciones no desea utilizar tubérculos-semillas de su propia cosecha (semilla “cansada”) y busca una fuente de semilla limpia, si esta no está disponible los cultivares nativos degenerados son descartados por los agricultores y reemplazados por otros cultivares o cultivos, perdiéndose la diversidad genética nativa.

La producción de papa nativa se ve amenazada por los diferentes agentes bióticos tales como bacterias, hongos y virus. Plantas infectados con virus caracterizados por una disminución en vigor, la productividad y la resistencia a otros agentes patógenos.

Debido al problema de degeneración de los cultivares (semilla cansada), los agricultores constantemente demandan una semilla de mejor calidad de sus cultivares preferidos. Por lo tanto, por la preocupación de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y de la Asociación de Productores Agropecuarios "La Andina de Marcaya" de la comunidad de San José de Marcaya del Distrito de los Morochucos de la Provincia de Cangallo, se seleccionaron 60 accesiones de los cuales 3 fueron priorizados por el Laboratorio de Genética y Biotecnología Vegetal para su limpieza viral, en base a sus características sobresalientes de alta rusticidad frente a factores abióticos y por su importancia social en la elaboración de alimentos. En el presente trabajo, se reporta su limpieza viral, con el uso de dos metodologías como son: electroterapia y termoterapia para luego producir semilla básica que será devuelta a la comunidad de origen así como a instituciones interesadas.

## **1.1. OBJETIVOS**

### **Objetivo general:**

Evaluación de los métodos, Electroterapia y Termoterapia para la liberación de los virus PVX y PVY en tres variedades nativas de papa, (*Solanum spp.*)

### **Específicos:**

- Identificar la presencia de virus en tres variedades nativas de papa "Leona", "Sangre de toro" y "Cceccorani" por la técnica serológica de ELISA.
- Determinar la eficiencia de la termoterapia y electroterapia para la liberación de virus PVX y PVY en papas nativas "Leona", "Sangre de toro" y "Cceccorani".

## **CAPITULO I**

### **REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

#### **1.1. ORIGEN DE LA PAPA NATIVA.**

Andrade, *et al.* (2002), relata que la mayor diversidad genética de papa (*Solanum spp.*) cultivada y silvestre se encuentra en las tierras altas de los andes de América del Sur. La primera crónica conocida que menciona la papa fue escrita por Pedro Cieza en 1538. Cieza encontró tubérculos que los indígenas llamaban "papa", primero en la parte alta del valle del Cuzco, Perú y posteriormente en Quito, Ecuador. El centro de domesticación del cultivo se encuentra cerca de la frontera actual entre Perú y Bolivia. Existe evidencia arqueológica del cultivo de la papa en los Andes.

#### **1.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA**

Terranova, (1995) clasifica taxonómicamente a la papa de la siguiente manera:

Reino	: Plantae
Clase	: Angiospermae
Subclase	: Dicotiledónea
Orden	: Tubiflorales
Familia	: Solanaceae
Género	: <i>Solanum</i>
Sub género	: Pachistemonum (con 5 secciones)
Sección	: Petota (tuberarium) con 2 sub secciones.
Sub sección	: Potatoe (antes Hyperbasarthrum)
Serie	: Ochoa (1972) 19 Series:
Especie	: Hawkes (1963): 8 especies cultivadas

### **1.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA**

#### **1.3.1. Brote**

Egúsquiza (2000), manifiesta que el brote es un tallo que se origina en el “ojo” del tubérculo. El tamaño y apariencia del brote varía según las condiciones en los que se ha almacenado el tubérculo y está constituido por: lenticelas, pelos, yema terminal, yema lateral, nudo y primordios radiculares.

#### **1.3.2. Raíz**

Huamán (1986), menciona cuando la planta procede de una semilla sexual su raíz es axonomorfa con abundantes ramificaciones laterales.

En las plantas procedentes de tubérculos, todas las raíces que brotan de este son secundarias del tipo fasciculadas. La mayor parte de las raíces se encuentran en los primeros 30 cm de suelo.

### **1.3.3. Tallo**

Egúsqüiza (2000), dice que la planta de papa es un conjunto de tallos aéreos y subterráneos.

#### **a) Tallos aéreos**

El tallo principal se origina del brote del tubérculo semilla. El tallo secundario se origina de una yema subterráneo del tallo principal. El tallo estolonífero se origina de un estolón que toma contacto con la luz. La rama se origina de una yema aérea del tallo principal. Los elementos del tallo aéreo son: nudo, ala y entrenudo.

#### **b) Tallos subterráneos**

El estolón transporta sustancias que se trasladan desde el follaje. El tubérculo es el tallo que almacena sustancias. Entonces, la planta de papa es un conjunto de tallos especializados para sostener hojas y flores (tallos aéreos), transportar azúcares (estolones) y almacenar almidones (tubérculos).

Los tallos son angulares, generalmente verdes, aunque pueden ser de color rojo purpúreo; son herbáceos aun en etapas avanzadas de desarrollo, la parte inferior puede ser relativamente leñosa.

### **1.3.4. Hoja**

Huamán, (1986), dice que las hojas de papa son compuestas, e irregularmente imparipinadas, con folíolos primarios, secundarios y hasta terciarios. Las hojas constan de nueve o más folíolos cuyo tamaño aumentan conforme se van alejando del nudo de inserción.

### **1.3.5. Flor**

Huamán, (1986), dice que la inflorescencia es cimosa y generalmente son terminales. Las flores constan de cinco sépalos, la corola de cinco pétalos, ligados en la base formando una superficie plana de cinco lóbulos. El androceo consta de cinco estambres (cada uno formado por antera y filamento) y el gineceo consta de un pistilo (compuesto de ovario súpero, binocular, estilo y estigma). El número de flores al igual que su color dependerá de cada genotipo.

### **1.3.6. Fruto**

Huamán (1986), menciona que es una baya pequeña, oval y carnosa en cuyo interior se encuentra las semillas sexuales. El color de la baya varia, presentándose de colores verde, amarillo, café e incluso violeta. El promedio de semillas por fruto es de 200 a 300. Las semillas son planas ovaladas y pequeñas.

## **1.4.- IMPORTANCIA DEL CULTIVO DE LAS PAPAS NATIVAS.**

El cultivo de las papas nativas representa un importante factor socio económico entre las comunidades andinas, no solo porque constituye un alimento básico en su dieta, sino porque además se comercializa.

### **1.4.1.- Importancia Económica**

En el Perú, su valor económico representa el 8% del PBI agropecuario, están involucrados más de 600,000 agricultores de 19 departamentos del país. En los últimos años el consumo de papa ha aumentado notablemente, el 2001 se consumían un promedio de 54 kg/per cápita,

actualmente se consumen 87 kg/per cápita, cifras aún bajas en comparación con otros países donde se consumen entre 180 y 200 kg por persona al año.

Sin embargo, se observan grandes posibilidades de mejora en la producción, sobre todo de papa nativa, que se ha convertido en un boom gastronómico de gran demanda debido a su sabor agradable y no poseer pesticidas.

El rendimiento promedio obtenido en el año 2010 fue de 13.2 toneladas por hectárea, llegando a obtener una producción de 3, 814 miles de toneladas con alrededor de 290 mil hectáreas dedicadas a este cultivo.

Los departamentos con mayor producción de papa son Puno, Huánuco, La Libertad, Junín, Cajamarca, Cusco, Arequipa, Lima, Apurímac, Ayacucho, Ancash y Pasco, lugares donde todavía se llevan a cabo prácticas ancestrales como el ayni, donde las comunidades campesinas aúnan esfuerzos en pos de una buena cosecha.

#### **1.4.2.- Importancia Alimenticia**

La papa es el cuarto cultivo alimenticio en orden de importancia a escala mundial, después del trigo, el arroz y el maíz. La producción anual representa la mitad de la producción mundial de todas las raíces y tubérculos, aproximadamente el producto llega a más de mil millones de consumidores de todo el mundo, dentro de este total, figuran 500 millones de consumidores de los países en vías de desarrollo, cuya dieta básica incluye la papa.

## **1.5.- VIRUS**

Los virus son patógenos obligados completamente dependientes de los constituyentes y moléculas celulares para su propia síntesis. Sus formas y tamaños son muy diversos, a menudo se describen como varillas rígidas y filamentos ondulados, en forma de bacilos o esféricos, tanto isométricos como poliédricos (Dunez, 1985; Agrios, 1995).

### **1.5.1.- Importancia de los Virus**

Las enfermedades de origen viral han causado pérdidas importantes en la producción agrícola mundial, se ha llegado a perder de un 70 a 100% de rendimiento en cultivos como papa, remolacha y frutales, en ocasiones el rendimiento no es afectado severamente ni el rendimiento disminuido, pero si demerita la calidad (Dunez, 1987).

Los virus provocan enfermedades que actualmente representan uno de los retos más serios e importantes en los sistemas de producción de las plantas cultivadas del mundo (Úrias y Alejandro 1992). Su importancia e impacto radica en los siguientes puntos.

1. Reducen la producción y calidad de los cultivos.
2. Por la mezcla de los virus que se presentan en la naturaleza.
3. Por no contar con herramientas químicas para su combate o control.
4. Por lo difícil y caro que resulta el diagnóstico de estas enfermedades.
5. Por la facilidad de transmisión.

Quak, (1977) cita varios ejemplos de comparación de rendimiento en calidad y cantidad entre plantas infectadas con virus y plantas libres de estos: las últimas sobresalen favorablemente; en algunas especies

vegetales a pesar de no presentar síntomas, se observan efectos favorables cuando se someten a un tratamiento para su saneamiento. Zaag, (1987) considera que el número de generaciones que transcurren desde la infección, influye en la reducción del rendimiento; además, la progenie vegetativa de una planta que ha sido infectada por primera vez, puede producir mejor que la progenie de una planta infectada una o más generaciones atrás. En cada generación los síntomas son más severos y menor el rendimiento.

### **1.5.2.- Virosis en Papas Nativas**

Uno de los factores limitantes en la producción de papa nativa en parcelas de pequeños agricultores, es la ocurrencia de enfermedades, entre ellas las ocasionadas por los virus.

Se conoce que los virus pueden afectar seriamente la producción de la papa, reduciendo el rendimiento hasta en un 80 – 90% dependiendo del virus, del cultivar de papa y del medio ambiente donde se desarrolla el cultivo, siendo los efectos más importantes la “degeneración” de la semilla, atribuida a los virus. En la región andina, existen pocos estudios acerca del efecto de los virus en el rendimiento de la papa (Ladislao, 2008).

### **1.5.3.- Virus que infectan las papas nativas**

Los virus que afectan a la papa son alrededor de 33. En el Perú se consideran como importantes los siguientes virus: PVX, PVS, APMV, APLV, PVY y PLRV que son de mayor importancia económica, además del viroide PSTVd. El efecto que ocasionan los virus a la papa depende

de diversos factores, unos externos (clima, presencia de vectores) y otros internos debidos a la interacción de complejos virales y características genéticas del cultivar, que confieren grados de susceptibilidad o tolerancia.

En el cultivo de papa, las enfermedades causadas por virus son uno de los problemas fitopatológicos más importantes, ya que están asociados a la reducción o pérdida en el rendimiento de tubérculos. La utilización de tubérculos-semillas infectados, conduce a la degeneración del cultivar con pérdidas en los rendimientos superiores al 80 % (Pumisacho et al, 2002).

#### **1.5.4.- Importancia de los virus de las papas nativas**

La importancia de los virus en las papas nativas radica en la disminución del rendimiento de los cultivos afectados, Mellor Stace – Smith, (1970) reportan pérdidas entre 5 a 75% por razas de PVX. La interacción de dos o más virus en un mismo cultivar, afectan en forma diferente los rendimientos, dependiendo de cuales estén presentes. Estudios realizados en Colombia determinaron que la interacción de PVX, PVY y PLRV redujeron rendimientos hasta un 61 %, mientras que PVX sólo lo hizo en un 0.2 %.

Bertschinger, et al (1990), en estudios de incidencia de virus de papa en cultivares nativos y mejorados en la sierra peruana encontró resultados muy interesantes: en promedio de 62 a 98% de infección de virus por lote/por zona; siendo PVX el virus de mayor incidencia de (37-82%), seguido por PVS (19-53%); la incidencia promedio de PLRV y PVY fue de 0.7-6.8%. En particular, PLRV resultó muy difundido en lotes de cultivares

nativos (24%). La incidencia del virus denominado SB-22 fue particularmente alta (39%) en el cultivar Qompis (*S. tuberosum ssp. andigeno*) lo mismo que el APLV (25%) en el cultivar Huayro (*S. chaucha*). Para APMV se determinó, en las zonas investigadas, una incidencia mediana (3-13%). La incidencia de PVX y PVS fue significativamente más alta en cultivares mejorados que en cultivares nativos, mientras que la situación con PLRV y PVY fue a la inversa.

Scheidegger et al (1995), durante dos ciclos de cultivo, investigaron los efectos de los principales virus sobre el rendimiento de papa en la sierra central del Perú a 3,200 m.s.n.m utilizando cultivares mejorados entre ellos Yungay y Mariva (*Solanum tuberosum ssp. andigena* x *Solanum tuberosum spp. tuberosum*) determinándose que los virus PLRV y PVY transmitidos por los áfidos, reducen hasta la mitad el rendimiento de una población originada en tubérculos-semilla sanos, en tanto que los virus transmitidos por contacto y sus combinaciones entre ellos, solamente ocasionaron una reducción significativa del rendimiento en el caso de poblaciones de baja densidad de siembra.

Con el uso de semillas de calidad sanitaria entre ellos la semilla básica, se pueden contrarrestar las pérdidas producidas por estos patógenos; para ello se debe producir semilla certificada que garantice la sanidad del tubérculo.

Los primeros avances de estos estudios señalaron que los tubérculos semillas común mente utilizados por el agricultor en el Perú están muy degenerados por virus.

Estos primeros estudios proporcionaron pocos datos sobre la incidencia en cultivares nativos y se concentraron sólo en el Valle del Mantaro en la Sierra Central del Perú.

#### 1.5.5.- Clasificación taxonómica de los virus de papas nativas

Familia: Potyviridae	Familia:	Familia: Luteoviridae
Genero:Potyvirus	Alphaflexiviridae	Género: Polerovirus
Especie: Potato virus	Género: Potexvirus	Especie: Potato
Y (PVY)	Especie: Potato virus	leafroll virus. (PLRV).
	X. (PVX)	

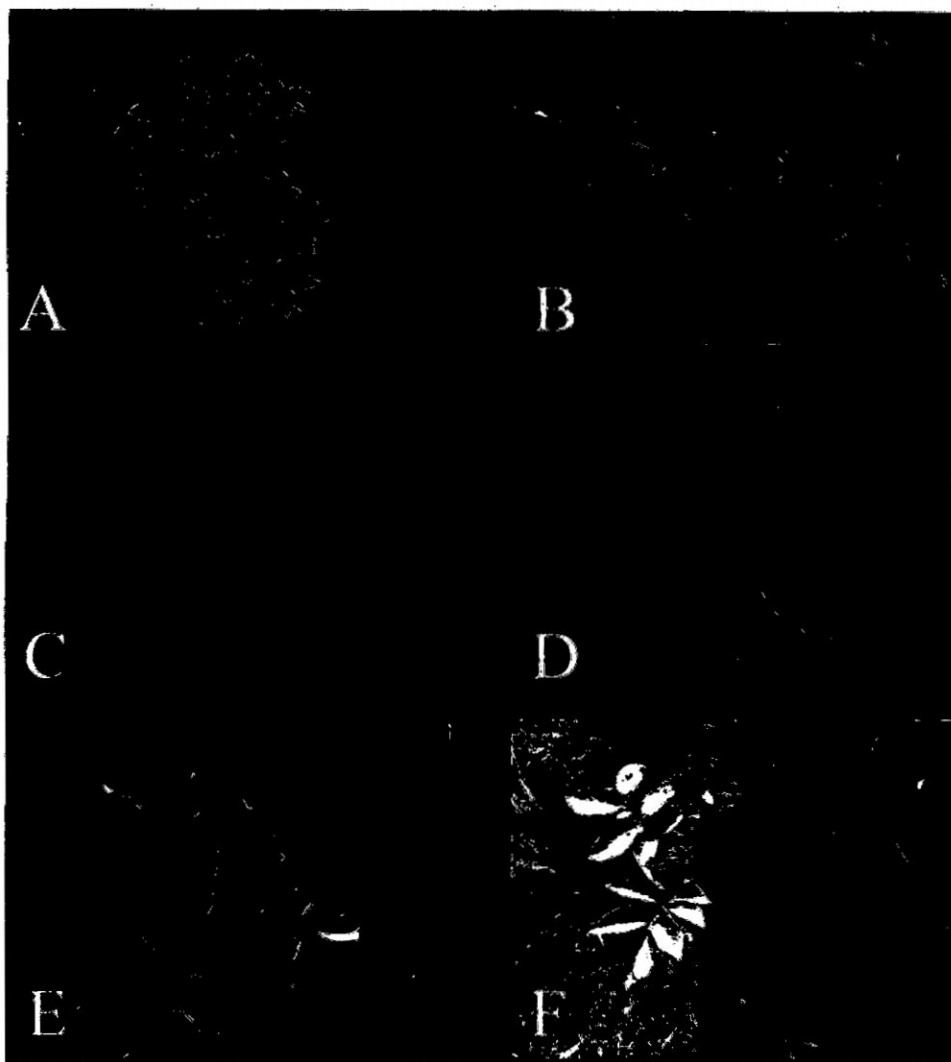
\* **Acrónimos de virus:** PVY (Potato Virus Y), PVX (Potato Virus X), PLRV (Potato leaf roll virus),

#### 1.5.6.- Características del virus (PVY) de las papas nativas.

La morfología del PVY consiste en una partícula con cápside no envuelta, elongada con simetría helicoidal, flexuosa y una longitud de 684 nm a 730 nm (Ogawa *et al.*, 2008). La proteína de la cápside (CP) es el principal componente del virión con aproximadamente 2000 unidades monoméricas. Históricamente, los aislamientos del PVY se han dividido en tres razas principales: PVY<sup>O</sup>, PVY<sup>N</sup> y PVY<sup>C</sup>, de acuerdo con los síntomas inducidos en *Nicotiana tabacum* cv. Samsun y *Solanum tuberosum* ssp. (Singh *et al.*, 2008). Más recientemente, se han incorporado en la clasificación de las variantes de esta especie viral los criterios del tipo de antigenicidad de su proteína de cápside, los genes de

resistencia que vence en el hospedante y la presencia de regiones recombinantes; tal es el caso del aislamiento denominado PVY<sup>Z</sup>, el cual está serológicamente clasificado como PVY<sup>O</sup>, pero sobrepasa los genes N<sub>ytbr</sub> y N<sub>c</sub> y elicitó el gen N<sub>z</sub> en las plantas (Singh *et al.*, 2008). Otro grupo es denominado PVY<sup>N-Wilga</sup> (PVY<sup>N-Wi</sup>), que presenta las propiedades biológicas de los aislamientos PVY<sup>N</sup>, pero está serológicamente clasificado como PVY<sup>O</sup>, lo que permite deducir que presenta un genoma recombinante entre las secuencias de los dos tipos de aislamientos (Glais *et al.*, 2002). Los síntomas inducidos por las razas PVY<sup>O</sup> y PVY<sup>C</sup> incluyen mosaicos suaves a severos, rugosidad de hojas, defoliación, enanismo y finalmente reducción en el rendimiento de las plantas. PVY<sup>N</sup> y PVY<sup>N-Wi</sup> generalmente causan síntomas más leves en hojas, pero también se han encontrado aislamientos causando necrosis de tubérculos (Shubert *et al.*, 2007). En los últimos años se ha detectado una variante denominada PVY<sup>NTN</sup>, serológicamente relacionada con PVY<sup>N</sup>, pero que causa anillos necróticos en tubérculos de papa, enfermedad conocida como PTNRD y que puede ocasionar pérdidas hasta del 100% en este cultivo (Kogovsek *et al.*, 2008). Estudios del genoma del virus han encontrado que las regiones 5' NTR (región no traducible del 5') y el gen P1 corresponden a las secuencias más variables en la especie PVY, siendo responsable hasta de un 28% de la variabilidad total existente entre los grupos PVY<sup>O</sup> y PVY<sup>N</sup> (Marie-Jeanne-Tordo *et al.*, 1995; Owaga *et al.*, 2008).

### 1.5.7.- Sintomatología causada por los virus en el cultivo de papa.



**Figura N° 1.1** Síntomas de los virus en el cultivo de papa. A: Amarillamiento de Venas (AV); B, D: Mosaico Rugoso (MR); C: Otros síntomas (verdeamiento de nervaduras). E: Enrollamiento Foliar (EF); F: Enanismo (EN).

### 1.5.8.- Transmisión de los virus

Se conocen varias maneras de dispersión además de la propagación asexual del material vegetal infectado; algunos virus pueden transmitirse por semilla o polen; los animales como los artrópodos y nematodos, y los hongos del suelo, sirven también como vectores de virus; aunque con

menos frecuencia, la infección puede ocurrir por el contacto con herramientas a las plantas, incluso por el roce entre ellas. Estos modos de transmisión permiten la supervivencia del virus y su dispersión a cortas y medianas distancias. La dispersión a largas distancias ocurre por el movimiento mundial del material vegetal (Dunez, 1987).

#### **1.5.9.- Transmisión por propagación vegetativa.**

Agrios (1995) señala que siempre que las plantas se propaguen vegetativamente, cualquier tipo de virus que exista en la planta madre, será transmitido a la progenie. Un principio de patología vegetal señala que las especies multiplicadas vegetativamente durante muchos años se infectan sistemáticamente con uno o varios patógenos, en especial virus o agentes similares Nyland, citado por Nome, (1987).

#### **1.5.10.- Transmisión por semilla.**

En la semilla también puede encontrarse virus que son transmitidos a las plantas; Vidales y Delgadillo (1987), encontraron por medio de ELISA que semillas de materiales genéticos de melón y pepino estaban contaminados por los virus del mosaico del pepino y mosaico de la calabaza. Ocurre cuando el ovario o el polen se encuentran infectados. Los virus que se transmiten por esta forma son: PVT, AIMV, TRSV-Ca, AVB-O, APLV, PYV y el viroide PSTVd. En general, la transmisión por semilla botánica no es importante en un cultivo propagado vegetativamente como la papa, excepto en los trabajos de mejoramiento para la obtención de nuevas variedades y en los casos de distribución internacional de material genético (cuarentena).

### **1.5.11.- Transmisión por insectos.**

Dentro de los vectores que transmiten virus de papa, se menciona principalmente los áfidos, los cuales transmiten los dos virus más ampliamente distribuidos e importantes, PVY y PLRV ( Salazar, 1982; Gandarillas, 1986), los áfidos transmiten los virus de la papa de dos maneras: 1) Transmisión no persistente y 2) Transmisión persistente.

#### **1.5.11.1.- Transmisión no persistente.**

Fue estudiada al detalle por Pirone y Harris (1977) y posteriormente por Raccah (1986) quienes indican que existen más de 100 virus que se transmiten en forma no persistente, constituyendo el mayor grupo de virus de plantas. De los virus importantes de papa, PVY es transmitido de ésta manera (Delgado-Sanchez y Grogan, 1970).

Las características de la transmisión no persistente son:

- a) Adquisición e inoculación: Los virus no persistentes son adquiridos e inoculados en períodos cortos de prueba (Pirone y Harris, 1977). Este tiempo se ha estimado en laboratorio y se considera que usualmente es menor a 20 segundos (Raccah, 1986). Este periodo de tiempo necesario para la transmisión, explica por qué muchas especies de áfidos pueden ser importantes en la epidemiología de virus no persistentes. Tanto áfidos colonizantes como visitantes pueden servir como vectores de estos virus (Raccah, 1986). Al respecto, Pirone y Harris (1977) indican que más de 150 especies de áfidos han sido reportadas como vectores de virus no persistente.

- b) Retención: el áfido deja de ser virulífero minutos u horas después de haber adquirido el virus. Los áfidos virulíferos que se alimentan en plantas sanas, tienden a perder el virus en menos de 30 minutos (Raccah, 1986).
- c) Especificidad: este término se usa para describir la interdependencia entre un virus y su vector. Se ha encontrado que no existe especificidad y que hay diferencia en la transmisión aún dentro de aislamientos de un mismo virus y aunque se use la misma especie de áfido.

Las razones de esta diferencia en transmisión no son aún muy conocidas (Raccah, 1986). Lung y Pirone (1973) sugieren la presencia de un factor necesario para la transmisión, que se encuentra en las hojas de plantas infectadas con aislamientos que se transmiten y que no está presente en hojas infectadas con aislamientos no transmisibles. Posteriormente Pirone (1981) confirmó la eficiencia y selectividad de un compuesto que favorece la transmisión de PVY y también encontró que la transmisión de ciertos aislamientos de virus puede estar relacionada con diferencias en la cubierta proteínica.

#### **1.5.11.2.- Transmisión persistente**

Los virus que son transmitidos en forma persistente, se localizan en el floema de las plantas y para que un áfido sea vector de un virus persistente debe alimentarse de una planta infectada y extraer el jugo del floema de la planta junto con el virus. Esto puede tomar 20 a 30 minutos (Raman, 1985). Las partículas virales llegan al intestino y aparentemente

pasan a la hemolinfa o sangre y luego a las glándulas salivales. Después de la ingestión del virus, transcurren varias horas antes de que el áfido pueda transmitirlo a otras plantas. Ese lapso de tiempo es el periodo de retención o circulación y después el virus persiste por varios días y a veces durante el resto de la vida del áfido pudiendo ser llevado a distancias largas (Hille Ris Lambers, 1980).

#### **1.5.11.3.- Especies de áfidos vectores de virus de papa**

Los virus no persistentes como el PVY, se adquieren mediante la prueba, es decir en segundos. El áfido puede infectar inmediatamente a otra planta en el mismo acto de la prueba, pero pierde rápidamente su poder infeccioso, ya sea probando plantas sanas o por el transcurso del tiempo, en general cerca de una hora. Dado que los áfidos tarde o temprano llegaran a probar cualquier planta, todas las especies deben considerarse potencialmente como transmisoras de los virus no persistentes, puedan o no vivir en el hospedante del virus (Hille Ris Lambers, 1980). En trabajos de laboratorio, más de 150 especies de áfidos han sido efectivas para transmitir PVY (Pirone y Harris, 1977).

#### **1.5.12.- Diagnóstico e identificación de virus.**

Cuando se investiga la identidad de un virus es importante determinar primero si es similar a alguno de los virus ya conocidos, esta es la fase de diagnóstico. En algunos casos con solo conocer el síntoma que inducen, la morfología de la partícula, el tipo de inclusión viral y una prueba serológica es suficiente para ubicarlo en algún grupo de virus. Si no es posible colocarlo en alguno, se pasa a la fase de identificación o

descriptiva, en la que se realizan todas las pruebas posibles para asegurarse que el virus es nuevo, establecer sus relaciones y publicar su descripción. Para la identificación de los virus se utilizan diversas pruebas y observaciones como pueden ser hospedantes diferenciales, sintomatología, estabilidad del virus en la savia, serología o microscopía electrónica (Cárdenas, 1992).

#### **1.5.13.- Plantas indicadoras.**

Las plantas indicadoras ayudan en la identificación del virus por los síntomas que producen, o bien, usando plantas diferenciales es posible separar virus cuando se tienen mezclas (Cárdenas, 1992).

#### **1.5.14.- Síntomas.**

Algunas plantas pueden no mostrar signos de infección, lo que hace necesario probar si las plantas son asintomáticas, si realmente están infectadas o si el virus está latente (Cárdenas, 1992). Los síntomas pueden observarse tanto en la especie de interés como en plantas indicadoras; existe una gran cantidad de éstas que se utilizan con este fin; algunas son silvestres y otras cultivadas, como las del género *Chenopodium* o algunas del género *Nicotiana*, pudiéndose usar incluso especies silvestres del mismo género de la especie de interés (Hernández et al., 1992; Van Dijk, 1991; Cárdenas, 1992)

#### **1.5.15.- Inclusiones virales.**

El tipo de inclusión viral, localización, subestructura y composición química es útil para diagnóstico e identificación de los virus. Todos o la gran mayoría de virus dentro de un grupo taxonómico inducen el mismo

tipo de inclusión, además, con las inclusiones se pueden determinar si una infección viral es provocada por uno o más virus, ayudan a definir a éstos cuando la sintomatología observada en plantas en el campo es muy parecida y en algunos casos, también se puede llegar a identificar virus a nivel de grupo; por ejemplo el onion mosaic yellow virus (OYMV), en cebolla, forma inclusiones citoplasmáticas, amorfas y granulosas (Cárdenas, 1987,1992).

#### **1.6.- PRUEBAS SEROLÓGICAS.**

La serología provee información específica y rápida con respecto a la presencia de los diferentes virus. Las pruebas serológicas existentes incluyen la microprecipitación, aglutinación de látex, inmunodifusión e inmunoabsorbancia con enzimas conjugadas (ELISA). Esta última es altamente sensible y específica; la prueba más utilizada, por su alta sensibilidad, es el doble sándwich de anticuerpos (ELISA), que permite evaluar un gran número de muestras simultáneamente en corto tiempo y mediante un procedimiento sencillo (Conci, 1991; Cárdenas, 1992).

La técnica serológica cuantitativa de ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) para la detección de virus vegetales, adaptada por Clark y Adams (1977), se utiliza ampliamente en la detección de virus vegetales y en la medición del título viral, por su sensibilidad y facilidad de interpretación. Actualmente se utilizan las variantes ELISA-DAS y DASi (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay - Double Antibody Sandwich/Indirect*), respectivamente, en las que se utilizan anticuerpos específicos

para la detección viral (cubrimiento y secundario) y anticuerpos conjugados a la fosfatasa alcalina, que por reacción con el sustrato de esta enzima, permiten la estimación del título viral por medio de la medición de la absorbancia a 405 nm. Los valores de densidad óptica (DO) son relativos al título viral en la muestra, y la estimación de la concentración de virus en la muestra se hace mediante comparación con una curva de calibración de concentración conocida (Clark y Adams, 1977; Guzmán *et al.*, 2002; Agrios, 2005; Guzmán, 2008).

#### **1.6.1.- Microscopía electrónica.**

La técnica de inmunomicroscopía es específica ya que se usa un anticuerpo para un virus específico, además facilita la observación de las partículas cuando se presentan en concentraciones bajas.

El método consiste en cubrir las rejillas con el anticuerpo, después se pone la savia y al final se tiñe con la tinción negativa (Baker *et al.*, citado por Cárdenas, 1992; Conci, 1991; Milne y Luisoni, 1976).

#### **1.6.2.- Técnicas moleculares.**

Con las técnicas moleculares es posible estudiar los organismos a nivel de ADN, lo que ha permitido establecer marcadores moleculares que facilitan la separación y caracterización genética de los diferentes individuos. Estos marcadores se han utilizado para detectar cambios en el genoma o para determinar la estructura de las poblaciones. Además ayudan a clasificar los individuos a nivel de especie, a conocer la dispersión de razas patógenas, e incluso permite estudiar el origen y la evolución de aislamientos o razas dentro de una población, y facilitan la

identificación de genes de interés y la construcción de mapas genéticos (Michelmore y Hulbert, Rosewich y McDonald, citados por Valverde y Paredes, 1996).

### **1.7.- MÉTODOS DE CONTROL DE VIRUS.**

El control de los virus vegetales ha estado basado principalmente en la prevención y prácticas de saneamiento, que son, producción y propagación de plantas libres de virus y la protección de las plantas contra la reinfección; estos esquemas de saneamiento para producción de plantas libres de virus han sido practicados por más de 30 años. (Dunez, 1987).

#### **1.7.1.- Quimioterapia.**

Por muchos años la quimioterapia se ha considerado un método con gran potencial pero, hasta ahora, los resultados no han sido favorables. Varios productos químicos han sido probados y de algunos se dice que inhiben la infección, pero ninguno es capaz de erradicar el virus de una planta infectada. La multiplicación de los virus disminuye cuando plantas infectadas son tratadas con alógenos químicos de purina y pirimidina. Los intentos más recientes se han concentrado en el uso de virazole o rivabirin, un análogo de guanina, el producto ha tenido efecto sobre ciertos virus pero los resultados son inconsistentes (Dunez, 1987).

#### **1.7.2.- Termoterapia y cultivo de meristemos.**

Los métodos de control de virus vegetales son principalmente: el tratamiento térmico, el cultivo de meristemos *invitro* y la combinación de

ambos, aunque existen otros que han sido utilizados pero no con la misma efectividad (Gibbs y Harrison, 1976; Quak, 1977; Lozoya y Dawson, 1982).

El éxito de la terapia depende del virus a eliminar y de las características del material vegetal. La termoterapia es comúnmente más efectiva sólo contra virus filamentosos e isométricos y contra enfermedades que se conocen son causadas por micoplasmas. Los cuatro pasos en las operaciones terapéuticas son: (1) Identificación del virus o los virus presentes en el clon. (2) Terapia. (3) Prueba a las plantas tratadas. (4) Propagación y pruebas continuas a las plantas saneadas bajo condiciones que eviten reinfecten (Quak, 1977).

El tratamiento con agua caliente (50 a 55 °C), en general puede causar daños al tejido hospedero, la duración y la temperatura varía con el tipo de virus, su eficiencia es muy variable; el tratamiento con aire caliente (37 a 38 °C) por varias semanas disminuye el efecto de la elevación de la temperatura sobre el material vegetal y afecta la translocación y replicación de los virus. Se considera que no existe una correlación entre el punto de inactivación termal (temperaturas altas) de los virus y la temperatura a la cual son eliminados por termoterapia (temperaturas menos altas); puede atribuirse a algún sistema metabólico que cambia el balance entre la síntesis viral y la pérdida de virus en la planta o al fracaso en la multiplicación del virus a esa temperatura (Quak, 1977).

Con excepciones, los virus no pueden ser eliminados totalmente de las plantas tratadas con termoterapia. Aunque el mecanismo de la

termoterapia no está totalmente entendido, este afecta la replicación y translocación de los virus, sobre todo de la parte distal del brote desarrollado durante el tratamiento o de las yemas individuales; ambos son separados de la planta después del tratamiento y multiplicados por medio de cultivo de meristemas, o bien, usando micro injertos de los mismos ápices en estacas libres de virus. La propagación de plantas liberadas de virus después de la termoterapia y el cultivo de meristemas varía entre 5 y 85%; sin embargo, estas plantas contienen un bajo nivel de virus que generalmente son indetectables si las plantas son probadas después de la propagación, por lo que requieren ser probadas por varios ensayos sucesivos basados en métodos de detección sensibles (Dunez, 1987). Al disminuir la replicación y translocación del virus con la termoterapia, se facilita la obtención del meristemo al poder tomar uno o más vigoroso, además aumenta la posibilidad de que se encuentre libre de virus (Quak, 1977; Gibbs y Harrison 1976).

Cuatro variedades de papas nativas colectadas en las Provincias de Bolívar, Cotopaxi y Chimborazo, fueron introducidos a condiciones in-vitro según los protocolos recomendados por el CIP (Lizárraga, et al. 1991). Mediante DAS-ELISA, y utilizando los antisueros proporcionados por el Centro Internacional de la Papa (CIP), se analizaron cinco variedades promisorias de papas nativas con seis virus: PVX, PVY, PLRV, PVS, PVM y PVA. Se observó la incidencia de PVX en las variedades Chihuahua negra (*Solanum stenotomum*), Tushpa (*S. andigena*), Moroponcho (*S. andigena*) y Jubaleña (*S. andigena*), y PVS en las variedades Moroponcho y

Jubaleña. La variedad oropiña (*S. andigena*) no presentó incidencia de ninguno de los virus analizados.

Las cuatro variedades con incidencia de virus, entraron a régimen de termoterapia. Para esto se utilizó un phitotron Thermo-Scientific 844, el cual fue programado a los siguientes regímenes de termoterapia:

T1: Cuarenta días: a 38 °C (Ramírez, 2004)

T2: Cincuenta y cinco días: 16 horas a 38 °C y 8 a 30 °C (Estrella, 1985).

T3: Cuarenta y dos días: 7 días a 30 °C; 14 días a 36 °C y 21 días a 38 °C (Bruna, et al. 1993)

De las plantas sobrevivientes de los tratamientos de termoterapia, se cortaron los meristemos de 0,3 mm en cámara de flujo laminar y bajo un estereoscopio. Los meristemos regenerados fueron examinados por DAS-ELISA para determinar la ausencia de la infección viral.

El tratamiento de termoterapia T2 presenta una sobrevivencia de plantas del 100 % frente al tratamiento T1 que fue del 95% y del tratamiento T3 que obtuvo un porcentaje del 85 %. En relación a las variedades, la Moroponcho sobrevivió en un 100% a los tres tratamientos de termoterapia y la menos tolerante a temperaturas altas fue la variedad Jubaleña que presentó un 60 % de sobrevivencia. El determinar la tolerancia al calor de la especie vegetal, es importante pues entre más amplia sea la diferencia entre el punto termal de la muerte del patógeno y del hospedero, mayor posibilidad de éxito se tiene al aplicar la termoterapia (Boks 1980 citado por Estrella, 1985).

En relación al mayor porcentaje de plantas libres de virus, se obtuvo 86% en el tratamiento T2 seguido por el tratamiento T1 con un 71% y por último el tratamiento T3 que obtuvo un porcentaje de plantas libres del 65%. La variedad que se eliminó de virus en un 95% fue la variedad Tushpa. De las variedades que estaban infectadas con la asociación viral X y S, la variedad Jubaleña tuvo un alto porcentaje de plantas libres (91%), mientras que la variedad Moroponcho registró un 57 % de plantas libres. Como se puede observar, la tolerancia al calor, la inactivación del virus y el desarrollo de plantas libres del patógeno tratadas con calor, depende en alto grado de la variedad o genotipo. Así la variedad Jubaleña registró una menor tolerancia al calor, pero resultó con el mayor porcentaje de plantas libres; mientras que la variedad Moroponcho que fue la más resistente, presentó un menor porcentaje de material limpio.

El virus PVX se encontró presente en cuatro de las cinco variedades nativas de papas evaluadas. La termoterapia y el cultivo de meristemas lograron eliminar las asociaciones virales PVX y PVS de las variedades nativas Moroponcho y Jubaleña.

El tratamiento de 55 días a 38 °C por 16 horas y 8 horas a 30°C resultó ser el tratamiento más eficiente de los tres evaluados.

### **1.7.3.- Mejoramiento genético.**

La disponibilidad de nuevas tecnologías en biología molecular e ingeniería genética hace posible considerar nuevas opciones para el control de virus vegetales. Pueden involucrarse nuevas técnicas para introducir en las plantas genes específicos o códigos genéticos no solamente de plantas,

sino también del genoma viral mismo para obtener genotipos resistentes. (Dunez, 1987).

#### **1.7.4.- Electroterapia**

El concepto puede definirse como el uso de corriente eléctrica con fines terapéuticos. Se basa principalmente en los fenómenos provocados en los tejidos por el paso de la electricidad, es decir, en el calentamiento por efecto joule y en la electrólisis. En la práctica se utiliza corrientes galvánicas, farádicas y alternas (Anónimo, 1979).

El principio de estos efectos se utiliza principalmente en la medicina humana; las corrientes galvánicas tienen un efecto analgésico sobre el sistema nervioso, provocan una activación de la circulación y de las funciones glandulares y un efecto electrolítico, las corrientes farádicas se usan en atrofas y parálisis musculares y las corrientes alternas de alta frecuencia tienen un efecto térmico que determina la vasodilatación y aumento de metabolismo de los tejidos afectados (Anónimos, 1979).

Otro principio utilizado es la marconiterapia que utiliza los efectos biológicos de las bandas hertzianas de onda corta; consisten en la formación de calor en el seno de los tejidos, de acuerdo con su constante dieléctrica, aunque no excluye acciones específicas, esto en consideración a la mayor constante dieléctrica de las células en relación a los líquidos intercelulares y, por tanto, el desarrollo esencialmente intracelular de calor (Salvat Mexicana de Ediciones, 1983).

#### **1.7.4.1.- La electroterapia en el control de virus vegetales.**

Comúnmente se define la corriente eléctrica como el flujo de cargas eléctricas a través de un conductor, desde los puntos de alto potencial a los de bajo potencial. Para que en un conductor se instale una corriente eléctrica, será necesario que dicho conductor tenga dos puntos por lo menos de potenciales diferentes (Soto, 1988; Holiday y Resnick, 1988).

#### **1.7.4.2.- Efectos de la corriente eléctrica sobre los tejidos.**

Los líquidos biológicos son electrolitos cuya conductividad eléctrica se asemeja a la de los metales. Los tejidos u órganos biológicos son formaciones bastante heterogéneas con diferentes resistencias eléctricas que pueden experimentar cambios por acción de la corriente eléctrica. Este hecho condiciona las dificultades de medición de la resistencia eléctrica tratándose de sistemas biológicos vivos Remizov, (1987).

La conductibilidad eléctrica de los tejidos y de los órganos depende de su estado su estado funcional y por consiguiente, puede utilizarse como indicador de diagnóstico. Los tejidos de los organismos biológicos conducen tanto la corriente directa como la alterna. Las membranas biológicas y, por tanto todo el organismo, poseen propiedades capacitivas, dan relación con ello, la impedancia de los tejidos del organismo se determina tan solo por la resistencia óhmica y por la capacitancia Tattar y Blanchard, (1976)

La dependencia de la impedancia respecto a la frecuencia ofrece la posibilidad de evaluar la viabilidad de los tejidos de organismo. La diferencia entre las dependencias de la impedancia respecto a la

frecuencia se advierte también en el tejido sano y enfermo; la impedancia de los tejidos y órganos depende así mismo de su estado fisiológico Tattar y Blanchard, (1976); Remizov, (1987).

Todas las sustancias constan de moléculas y cada una de estas últimas representan un sistema de cargas. Esta es la razón por la cual el estado de los cuerpos depende substancialmente de las corrientes que fluyen por ellos y del campo electromagnético actuante. Las propiedades eléctricas de los cuerpos biológicos son más complejas que las de los objetos inanimados ya que el organismo es, además, un conjunto de iones con concentración variable en el espacio. El mecanismo primario de la acción de las corrientes y de los campos electromagnéticos sobre el organismo es físico Tattar y Blanchard, (1976); Remizov, (1987).

Hayden et al. Y Higinbotham, citados por Tattar y Blanchard, (1976) mencionan que el paso de una corriente en una solución diluida como la que se encuentra en los tejidos vegetales es por el movimiento de los iones o electrolitos dentro y fuera de la células frecuentemente resultan de diferencias en el potencial eléctrico que son activamente reducidas a través de la membranas vivas.

La membrana plasmática es una capa de lipoproteína y actúa como un aislante eléctrico de corrientes de baja frecuencia, las cuales aplicadas a tejidos pasan de célula a célula primeramente por medio de la pared celular y en fluidos dentro de los elementos conductivos. Así como la célula metaboliza normalmente, estas propiedades eléctricas pueden reflejar primeramente cambios en la tasa metabólica.

Encima de los daños a la membrana metabólica, la de polarización o pérdida electrolítica puede ocurrir, si los daños resulten en células muertas, como ocurre a menudo durante las interacciones parásito-hospedero, la emisión de electrolitos desde la célula dentro de los espacios intercelulares pueden causar un gran incremento local de concentraciones de iones; estos cambios en las concentraciones de iones intersticiales pueden tener efectos pronunciados sobre las propiedades eléctricas del tejido afectado (Tattar y Blanchard, 1976).

Wagele, citado por Hernández (1996) señala que por medio de tratamiento con corriente eléctrica se estimula la regeneración de células y tejidos; Black et al., citados por Tattar y Blanchard (1976) demostraron a través de una serie de experimentos una estimulación positiva del crecimiento de brotes; Guerrero (1978) reporta un mayor crecimiento en brotes de papa al hacer pasar un flujo de corriente a través del sustrato donde se encontraban establecidos.

#### **1.7.4.3.- Acción primaria de la corriente eléctrica directa.**

Los organismos, en una parte considerable, constan de líquidos biológicos que contienen un gran número de iones, los cuales participan en los diferentes procesos metabólicos. Por la acción del campo eléctrico los iones se mueven con distinta velocidad, se acumulan junto a las membranas celulares y forman un campo eléctrico inverso denominado campo de polarización. De este modo, la acción primaria de la corriente continua está relacionada con el movimiento de los iones, con la separación de ellos y la variación de su concentración en los diferentes

elementos de los tejidos. Dependiendo de la intensidad de la corriente será la acción que se ejerza sobre el organismo; esta es la razón por la cual es de sustancial importancia la resistencia eléctrica de los tejidos (Remizov, 1987).

#### **1.7.4.4.- Acción primaria de la corriente eléctrica alterna.**

La acción de la corriente alterna sobre los organismos depende substancialmente de su frecuencia. Con frecuencias bajas, sonoras y ultrasonoras la corriente alterna al igual que la continua, ejerce sobre los tejidos biológicos una acción irritante. Esta circunstancia se debe al desplazamiento de los iones de las disoluciones de electrolitos, a la separación de ellos y a la variación de su concentración en las distintas partes de la célula y de los espacios intercelulares. La irritación de los tejidos depende también de la forma de la corriente de impulsión, de la duración del impulso y de su amplitud (Remizov, 1987).

#### **1.7.4.5.- Electrodo.**

Los electrodos son conductores de forma especial que conectan el circuito con el sistema biológico, se emplean tanto para extraer las señales eléctricas y para garantizar una acción electromagnético exterior, deben cumplir varios requisitos: deben ser factibles de quitarlos y ponerlos con rapidez, deben tener una alta estabilidad de los parámetros eléctricos, ser resistentes mecánicamente, no crear interferencias, no irritar el tejido biológico, otros (Remizov, 1987).

Las reacciones químicas que se producen a lo largo del trayecto de la corriente eléctrica, modifican profundamente los tejidos, modificándose la

resistencia eléctrica de por donde pasa la corriente; por tanto, no tiene sentido medir con precisión la resistencia eléctrica de los tejidos (Soto, 1988). La resistencia eléctrica del tejido está indirectamente relacionada con el área transversal del tejido y directamente con la distancia entre los electrodos; Por esta razón, las mediciones de resistencia pueden ser comparadas sólo cuando se tienen tipos iguales de electrodos, tejidos del mismo tamaño y distancias similares entre electrodos (Tattar y Blanchard, 1976).

#### **1.7.4.6.- Uso de las corrientes eléctricas en fitopatología.**

La técnica de la electroterapia no es muy conocida, sin embargo, Weiss (1922), mencionaba las corrientes de alta frecuencia como una posibilidad para lograr atenuar virus y bacterias.

Tattar y Blanchard (1976) hicieron una recopilación de investigaciones enfocadas hacia el uso de la electrofisiología en fitopatología, sobre todo en el uso de medidas de diagnóstico eléctricas no destructivas, aunque también mencionan algunos resultados de los tratamientos con electricidad y su efecto sobre algunas enfermedades fungosa y virales.

Hoy en día el concepto de electrónica tiene una amplia difusión; como ciencia técnica se basa en primer término en los logros de la física. Sin vacilaciones se puede decir que actualmente sin aparatos electrónicos es imposible tanto el diagnóstico de las enfermedades, como su tratamiento (Remizov, 1988).

#### **1.7.4.7.- Efecto de la corriente eléctrica en la eliminación de virus.**

Quacquarelli, *et al.*, (1980), utilizando la corriente eléctrica, lograron degradar partículas virales en preparaciones del virus mosaico del almendro (AMV) cuando se sometieron a un tratamiento de 10 o 100 mA durante dos minutos. Posteriormente trabajaron con varetas de almendro y las sometieron a una intensidad de 500 V de corriente eléctrica continua a diferentes tiempos. Un efecto benéfico del tratamiento se observó después de cinco minutos de aplicación de corriente y la inactivación del virus se alcanzó después de 20 minutos en varetas inmersas previamente en una solución de NaCl al 0.2%.

Posteriormente realizaron otro experimento para calcular la resistencia del material vegetal obteniendo 17 megahoms/mm<sup>2</sup>/m en junio y 28 megahoms/mm<sup>2</sup>/m en septiembre. Los autores concluyen que independientemente de la duración del tratamiento y las condiciones de aplicación, el efecto de la electricidad en los virus parece estar muy relacionado con el incremento de temperatura, pero el calor producido por resistencia puede no haber sido el único factor responsable de la protección de varetas de almendro.

Guerrero (1978) buscando alternativas para eliminar el virus X de la papa (PVX) obtuvo una reducción del 33.55% ( $P < 0.1$ ) en la concentración de virus en los folíolos inmersos en agua y tratados con una corriente de 3 a 4 V durante 15 minutos y no reporta daños en el material vegetal.

Lozoya *et al.* (1995), trabajando también con material infectado con PVX, aplicaron diferentes intensidades de corriente a distintos tiempos,

posteriormente sembraron *in vitro* las yemas axilares de los tallos tratados. Al medir la eficiencia del tratamiento obtuvieron de un 40 a un 80% de regeneración de plántulas y de éstas, del 60 al 100% resultaron libres de virus con 15 mA durante cinco minutos.

Hernández *et al.* (1996), reportan porcentajes de saneamiento en caña de azúcar, para bacterias y virus, que van desde un 78% hasta un 100%, dependiendo del tratamiento eléctrico y de la variedad; estos tratamientos se hicieron previos al cultivo de ápices *in vitro*. Los autores mencionan las siguientes ventajas del método de electroterapia:

Se acelera el crecimiento del material vegetal.

- Las vitroplantas llegan a tener tamaño y peso adecuado para hacer el diagnóstico de los patógenos más rápidamente.
- La regeneración del material tratado sufre menos daños y el porcentaje es igual o superior al material no tratado.
- Altos porcentajes de sanidad,
- Ahorro de energía al no ser necesario el uso de phitotron para termoterapia.

### **1.8.- INACTIVACIÓN TÉRMICA DE LOS VIRUS.**

Ginoza (1977) menciona que los virus pueden ser inactivados térmicamente por la desnaturalización de la cubierta de proteína, y quizá una estructura morfológica externa esté asociada con la adhesión e inyección, aunque el potencial de su ácido nucléico permanezca intacto. En otros casos, el ácido nucléico pudiera ser selectivamente inactivado, permaneciendo la cubierta de proteína intacta, lo cual puede ser aclarado

comparando los rangos de pérdida de infectividad con los de la pérdida de antigenicidad. Esto se observa cuando el virus es inactivado bajo la temperatura a la cual se desnaturaliza la proteína. En otros casos, el ácido nucléico solo puede lograr entrar dentro de una célula y completar el ciclo infeccioso, aunque con menor eficiencia que el virus intacto. No puede hacerse una simple generalización de inactivación termal, ya que la proteína, el ADN y el ARN tienen sus propios rangos de procesos de degradación y pérdidas de funciones.

Lozoya y Dawson (1982) usaron alternancia de temperatura para eliminar virus del cultivo de papa, mencionan que al incrementar a 40 °C la temperatura a la cual los virus se multiplican, la síntesis de ARN genómico viral cesó casi inmediatamente. Esto fue por comparación con una cesación similar de Síntomas de varias especies de ARN hospedero. En plantas que fueron reubicadas a 25 °C después de la incubación a 40 °C, la síntesis de ARN hospedero continuó inmediatamente. Estos autores opinan que con alternancia de temperatura se puede permitir el crecimiento de las plantas con una interrupción de la multiplicación viral.

Dawson *et al.* (1978) Estudiaron el efecto de la termoterapia sobre la replicación de ácido ribonucleico (ARN) de cowpea chlorotic mottle virus (CCMV), deducen que la incubación a 40 °C tuvo dos efectos sobre la síntesis de ARN viral; el efecto inmediato fue la inhibición de la síntesis de ARN del CCMV y un efecto más gradual fue la destrucción de la capacidad para la síntesis de ARN, debido a la disminución en la actividad de la enzima replicasa.

## 1.9.- ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Sangar *et al.*, (1988). Observaron la aparición de virus de la papa, incluyendo virus Y de la papa (PVY) en campos comerciales (Nascimento *et al.*, 2003. ; Biswas *et al.*, 2005), con infecciones únicas y mixtas. De alta virulencia de estos virus, las introducciones continuas de los virus a través de las semillas importadas y la aparición recurrente de la compañía del vector de algunas estos virus son los principales impedimentos directamente en el control de las infecciones virales (Ahmad y Ahmad, 1995). Virus Y de la papa (PVY) es la especie tipo del género *Potyvirus*, en la familia Potyviridae (Kitajima *et al.*, 1997). Los síntomas inducidos por PVY varían de un mosaico casi imperceptible hasta necrosis graves y la muerte prematura de plantas, dependiendo del cultivar y cepa viral (Barker, 1994 ; Sturz *et al.*, 2000. ; Robert *et al.*, 2000). Rendimiento ha disminuido como resultado de PVY se encontró en un rango desde 14 hasta 88% (Spaar y Kleinhempel, 1986), mientras que De Bokx y Huttinga, (1981) señalaron que PVY redujo el rendimiento de 10-80%, dependiendo de la cepa del virus, cultivar papa y tiempo de la inoculación. Hane y Hamm (1999) presenta que hay disminución en el rendimiento total y comercial mediante el uso de tubérculos de papa PVY infectados en el campo. Plantas infectadas transmitidas por semilla tuvieron menos y más pequeños tubérculos que hacían las plantas cultivadas a partir de los libres de virus. Whitworth *et al.*, (2006) encontró que el PVY reduce el rendimiento en muchas variedades. La calidad del tubérculo de la semilla es un factor extremadamente importante para el rendimiento de la papa,

ya que es una planta propagada vegetativamente y agentes de enfermedades virales se transmite fácilmente a través de los tubérculos (Sturz *et al*, 2000. ; Nascimento *et al*, 2003.). Uno de los métodos más viables para la obtención de las existencias libres de virus a partir de material de propagación que viene de las plantas infectadas es la erradicación del virus mediante el uso de cultivo de tejidos de técnicas, con la ayuda o no por termoterapia y quimioterapia (Mellor y Stace-Smith, 1970 ; Awan *et col.*, 2007). Estas metodologías permiten la rápida propagación de materiales de plantas, producción de plantas sanas en un corto período de tiempo. Termoterapia y cultivo de meristemas se utilizan comúnmente para la producción de papa libre de virus (Faccioli y rubies-Autonell, 1982 ; Faccioli y Colombarini, 1996). Klein y Livingston (1983) describen que, Virus X de la papa (PVX) y virus Y de la papa (PVY) fueron eliminados por cultivo de meristemas y la quimioterapia usando ribavirina (1-β-D-ribofurasonyl-1, 2,4 triazona-3-carboxamida), pero el tiempo necesario para la regeneración de las puntas era más larga que el no tratado controles. Cassels, (1982) y Cassels (1987) , informaron que la inclusión de la ribavirina en el cultivo de tejidos de los medios de cultivo resultó en una alta frecuencia de la eliminación del virus de la papa complejo X, Y, S y M. La aplicación de pulsos eléctricos a eliminar virus de tejido vegetal ha recibido recientemente mucha atención. El uso de electroterapia Quacquerelli (1980) obtuvo plantas de almendra asintomáticas. Además, mediante el uso de aparatos de electroterapia desarrollado en Cuba (Patente de Cuba 37/95 AO 1C/08 1524-1597), el

ajo tratada (*Allium sativum* L.), caña de azúcar (*Saccharum* sp.), plátano (*Musa* sp.) y aráceas (*Xanthosomas* y *Colocasia*) para potyvirus, Luteovirus, Cucumovirus y Carlavirus eliminación, respectivamente (citado de Hernández *et al.* (1999)). Para papa, Yi *et al.* (2003) y Dhital *et al.* (2008) , informaron de PVX, PVY y PLRV eliminación en aproximadamente el 40% de las plantas regeneradas. Este estudio se inició debido a las variedades comerciales de alto rendimiento o líneas que muestran resistencia duradera contra el virus de la papa en Egipto no están disponibles. Así que, el objetivo del estudio fue evaluar la eficacia de diferentes tratamientos para la eliminación de PVY en plantas de papa y encontrar la mejor opción para la erradicación del virus y una mayor regeneración de la planta.

## **CAPITULO II**

### **MATERIALES Y MÉTODOS.**

#### **2.1 LUGAR DEL EXPERIMENTO.**

##### **2.1.1 Ubicación:**

El experimento se llevó acabo en el Laboratorio de Genética y Biotecnología Vegetal de la Escuela de Formación Profesional de Agronomía de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga - Ayacucho. La temperatura media en el laboratorio de cultivo fue de 18 grados centígrados (°C), con máximas de 24 °C y mínimas de 12 °C.

Geográficamente el Laboratorio de Genética y Biotecnología Vegetal se ubica en la ciudad Universitaria: en la avenida Independencia de la Ciudad de Ayacucho. Longitud: 74°13'10 Latitud: 13°08'51" Altitud : 2791 m.s.n.m.

##### **2.1.2 Duración Del Experimento**

EL período experimental tuvo una duración de 443 días, iniciándose el 19 de Agosto de 2013, la misma que concluyó el 05 de noviembre de 2014,

con el envío de muestras a SENASA – Lima para la segunda prueba serológica.

### **2.1.3 Equipos**

#### **a. Cámara de termoterapia**

Es una cámara tipo Phitotron, en el cual la temperatura interna máxima llega hasta 50 °C, luz de alta intensidad hasta 2500 lux y la humedad relativa se calibra de acuerdo al requerimiento.

#### **b. Equipo de Electroforesis**

**Marca** : Biometra

**Modelo** : Standart Power Pack P25

Equipo que permite la separación de mezclas de partículas con carga eléctrica en solución, aprovechando la diferente velocidad de migración cuando se aplica un campo eléctrico (electroforesis).

También se utiliza para la separación de ADN y de proteínas. Con 4 salidas, el equipo tiene cuatro niveles de medida: de 0 a 500 mA, entre 0 y 400 voltios, y de 0 a 1 mA, entre 0 a 200 voltios. En el presente trabajo se calibró a 12 mA y 5 voltios.

#### **c. Autoclave**

Se utilizó autoclave, con una capacidad de 10 kg. A una presión de 2.3 atmósferas y 105 °C de temperatura durante 20 minutos para la esterilización de los materiales de laboratorio, medios de cultivo y agua destilada.

#### **d. Equipo destilador.**

El destilador de agua es un instrumento de laboratorio que se usa para purificar el agua corriente, mediante procesos controlados de vaporización y enfriamiento. Al aplicar energía térmica al agua en fase líquida, luego de un proceso de calentamiento, se convierte en vapor de agua. Esto permite separar las moléculas de agua, de las moléculas de otras sustancias o elementos que se encuentran mezclados o diluidos. El vapor de agua se recolecta y se lleva a través de un condensador, donde el vapor se enfría y vuelve a la fase líquida, como agua destilada.

#### **e. Balanza**

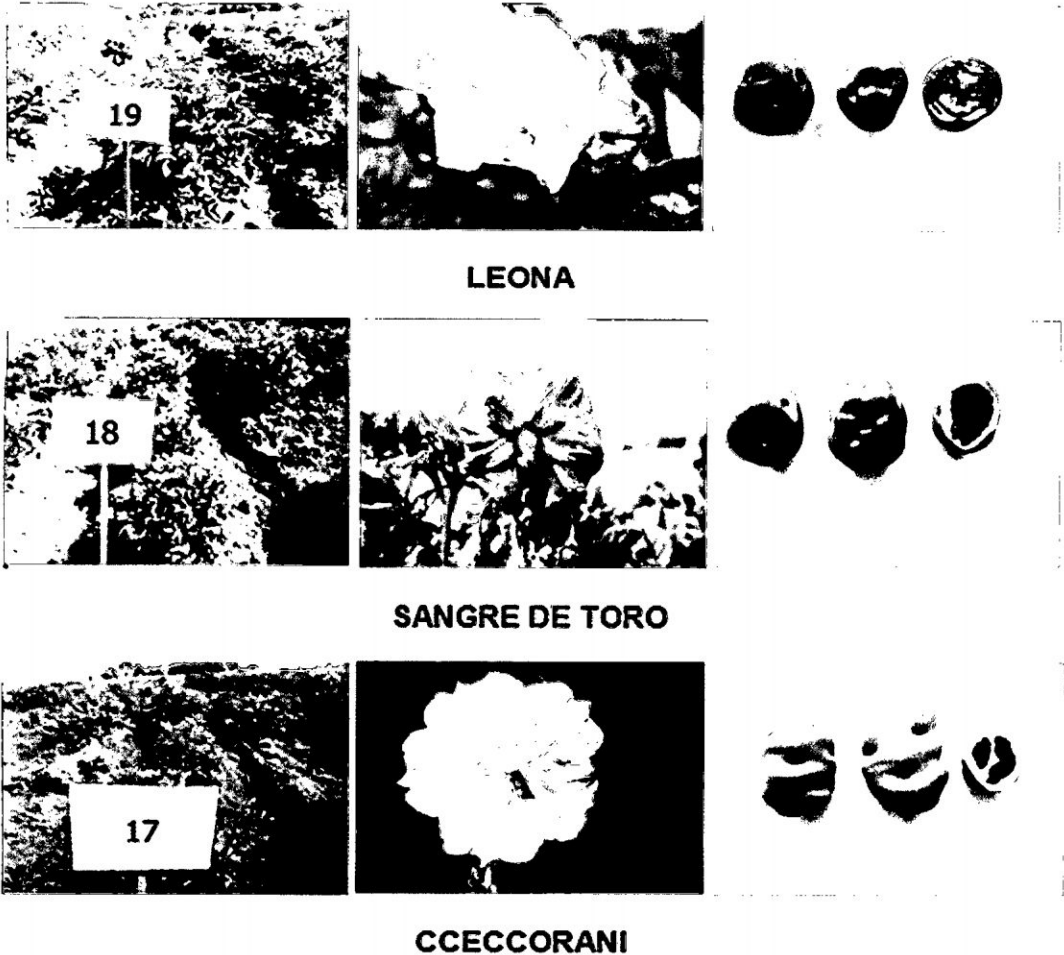
Balanza de precisión para pesar los insumos de los medios de cultivo.



## **2.2 MATERIAL GENÉTICO.**

Se trabajó con 3 variedades nativas de papa (*Solanum spp.*) de la Unidad Banco de Germoplasma de Laboratorio de Genética y Biotecnología Vegetal de la Escuela de Agronomía, los cuales fueron seleccionados de una población de 60 accesiones de papa nativa que se cultiva en la Comunidad de San José de Marcaya del Distrito de Morochucos, Provincia de Cangallo y Región Ayacucho, las tres variedades nativas

corresponde a la cosecha de la campaña 2012 – 2013. Esta localidad está a una distancia 5 km de Pampa Cangallo; Latitud: 13°33'54" Longitud : 74°14'47" Altitud : 3660 m.s.n.m.



**Fotografía N° 2.1.** Plantas de papa nativa “Leona”, “Sangre de toro” y “Cceccorani” en la parcela de la Asociación de Productores Agropecuarios de San José de Marcaya, campaña agrícola 2013.

De cada variedad se obtuvo 4 tubérculos, previamente seleccionados en campo, que presentaban síntomas característicos de virosis, asignados con códigos para cada variedad y su número correspondiente. La identificación de cada morfotipo se extrajo del estudio de caracterización

morfológica, evaluación agronómica y ploidia de 60 colecciones de papa nativa de (Gutiérrez, 2013).

### 2.3 DISEÑO EXPERIMENTAL.

Las papas nativas denominadas “Leona”, “Sangre de toro”, “Cceccorani” se sometieron a termoterapia y electroterapia; los tratamientos se distribuyeron en el Diseño Experimental Completamente Randomizado (DCR), con 3 tratamientos y el promedio de diez repeticiones. La unidad experimental estuvo formada por una plántula *in vitro*. El Cuadro N° 01 muestra el esquema del diseño que se utilizó para cada una de las papas nativas (Variedad).

Cuadro N° 01. Diseño Experimental Completamente Randomizado (DCR).

VARIEDAD	TRATAMIENTOS	CODIGOS	REPETICIONES
			1 plántula/tubo de prueba
LEONA, SANGRE DE TORO, CCECCORANI	37 °C	T1	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10
	12 mA	T2	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10
	37 °C + 12 mA	T3	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10

Modelo aditivo lineal del Diseño Experimental Completamente Randomizado (DCR) es:

$$Y_{ij} = u + T_i + E_{ij}$$

Dónde:  $Y_{ij}$  = Variable respuesta.

$u$  = Promedio de la población.

$T_i$  = Efecto de los  $i$ -ésimos tratamientos.

$E_{ij}$  = Efecto del error experimental.

## 2.4 INSTALACION Y CONDUCCIÓN DEL EXPERIMENTO.

### 2.4.1 Ruptura del periodo de reposo.

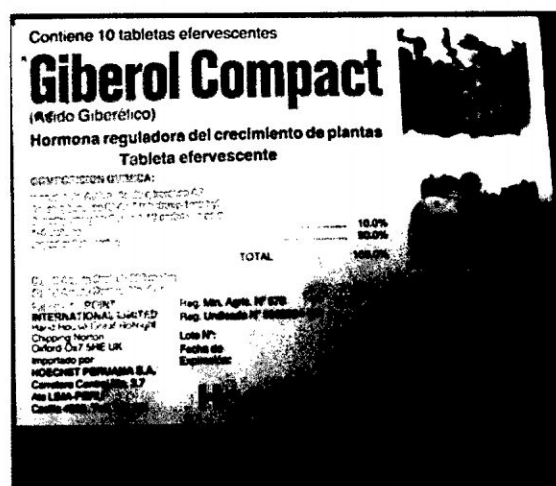
Se ha sometido a esta práctica los tubérculos semilla de papa para la finalización del período de reposo que se ha inducido por tratamiento químico como describe Naranjo *et al.*, (2002). Tratamiento químico.- Se ha utilizado ácido giberélico (Giberol compact) Hormona reguladora del crecimiento de plantas, tableta efervescente.

Composición química: Ingrediente activo: Acido giberélico A3:

Ácido giberélico (2.4<sup>a</sup>,7trihidroxy-1methyl-8-methylenegibb 3 ene-1,10carboxilic acid 1-4 lactone: 10.0% + Ingredientes inertes 90.0% = Total. 100.0%

En una dosis de 1 tableta por 200 litros de agua, para interrumpir la latencia de los tubérculos y estimular el brotamiento uniforme. Se ha sumergido los tubérculos por 5 minutos.

Después de permanecer los tubérculos-semilla en esta solución se ha extendido en un lugar sombreado y se dejó secar como cita, (Montesdeoca, 2005).



#### **2.4.2 Siembra de tubérculos seleccionados en maceteros**

Los tubérculos de las tres variedades nativas seleccionadas se cultivó vegetativamente en maceteros, estos tubérculos eran de buenas condiciones físicas, fisiológicas, salvo la infección por virus.

##### **Preparación del sustrato y envase para manejo de planta madre en laboratorio.**

El sustrato preparado tuvo las siguientes proporciones: 5 partes de tierra negra: 3 partes de tierra agrícola: 2 partes de arena fina de río. Previamente la arena y tierra agrícola se ha zarandeado en una malla de  $\frac{1}{4}$ ". Luego lo mezclamos con la ayuda de pala cuchara, después llenamos, a los maceteros de 4 kg, previamente lavados, con 5 orificios de 0.5 cm de diámetro en la base para el drenaje, además se colocó piedras pequeñas en la base, aproximadamente con 1 cm de diámetro luego llenamos con la mezcla del sustrato sacudiendo hasta que el envase esté casi lleno, sobrando solamente 3 a 5 cm desde la superficie del sustrato al borde del envase para poder regar las plantas.

La siembra de las papas nativas se realizó sembrando 4 tubérculos por cada morfotipo, 4 maceteros con semilla de "Leona", 4 maceteros con semilla de "Sangre de toro" y 4 maceteros con semilla de "Cceccorani". Colocamos las semillas a una profundidad de 15 cm, ejerciendo una presión para que no quede bolsas de aire alrededor de la semilla, en seguida le aplicamos un riego pesado, dejando por 3 días sin regar, luego regamos cada 3 días con 800 ml, de agua por el resto del tiempo durante esta fase del experimento.

### 2.4.3 Inoculación viral

Las plantas de papas nativas “Leona”, “Sangre de toro” y “Cceccorani” cultivadas en maceteros durante 45 días desde la siembra, se trasladaron del Laboratorio de Genética y Biotecnología Vegetal de la UNSCH, al Campo Experimental Canaán Bajo de la Escuela de Agronomía – UNSCH donde se encontraba en pleno crecimiento papa de la variedad canchan en una extensión de 0.5 Has (sembrado en campaña chica 2013), los cuales mostraban síntomas evidentes de estar infectados con los virus PVX, PVY y PLRV. Con la finalidad de asegurar la inoculación con los virus mencionados a través de los vectores (áfidos) presentes en dicho cultivo. Como indica Raccah, (1986) que la transmisión del virus PVY, es a través de áfidos locales y visitantes que transmiten este virus de manera no persistente.

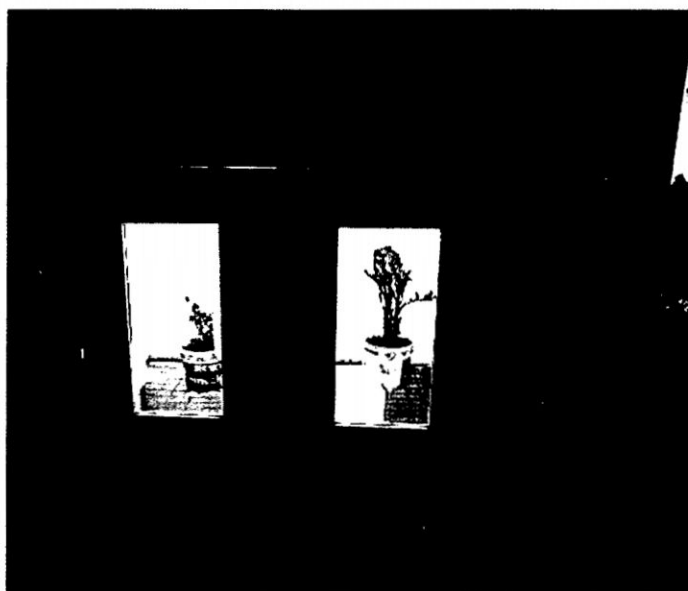


**Fotografía N° 2.2.** Plantas de papa canchan con síntomas de virosis, obsérvese el encrespamiento y enrollamiento de las hojas y nuestras papas nativas en maceteros C.E. Canaán 2013.

Además para estar seguros de la infección viral se procedió a la inoculación artificial: Se trituró hojas con síntomas virales de papa Canchan utilizando mortero y pilón, el jugo obtenido se distribuyó sobre la hoja de las plantas de papas nativas, previamente lesionadas con vidrio molido.

#### **2.4.4 Aplicación de termoterapia**

La termoterapia se llevó a cabo en el Phitotron utilizando 2 plantas madres de papa nativa por variedad infectados con virus, previamente se eliminó la yema vegetativa apical para inducir el crecimiento de los tallos axilares secundarios, sometidos durante 35 días a la temperatura de  $37 \pm 2$  °C con fotoperiodo de 24 horas luz, de 2500 lux, y humedad relativa entre 85 a 90 %.



**Fotografía N° 2.3.** Phitotron para la aplicación de termoterapia en plantas, calibrado a  $37 \pm 2$  °C.

#### **2.4.5 Aplicación de electroterapia**

Tallos vigorosos con 5 yemas axilares fueron directamente conectados a los electrodos con intensidad de corriente eléctrica de 12 Miliamperios por 5 minutos, que se fijó en una cámara de electroforesis conteniendo una solución de NaCl (1M). Luego se aislaron los meristemos menores a 0.5 mm de tejido y sometidos a medios de cultivo para su regeneración, siguiendo la metodología Yi et al. (2003) y Farzana et al. (2007).



**Fotografía N° 2.4.**Tallos de papas nativas infectadas con PVY en el equipo de electroforesis.

## **2.4.6 CULTIVO IN VITRO**

### **2.4.6.1 Extracción de meristemos**

La metodología para la extracción de los meristemos fue de tallos con brote de 1 cm de longitud. En este momento se procedió a cortarlos, inmediatamente se desinfectó sumergiéndolo unos segundos en alcohol y luego en hipoclorito de sodio al 2% durante 15 minutos. El recipiente que contiene estos brotes se ha introducido bajo cámara de flujo laminar. Una vez transcurrido el tiempo de desinfección los brotes fueron lavados 5 veces con agua destilada estéril para eliminar los restos de hipoclorito y colocados en una caja de petri también estéril.

Sobre papel estéril y con ayuda de una pinza que sostiene la base del brote se procedió a cortar con un bisturí las hojas y primordios exteriores, cuidando de no dañar el meristema apical y dejándolo limpio de tejidos adyacentes.

Una vez descubierto el domo se lo extrae con 1-2 primordios foliares utilizando una microcuchilla. El corte se realizó perpendicular al eje del meristema entre 0.1 y 0.2 mm por debajo de la superficie del domo. El explanto adherido a la microcuchilla se ha transferido a un tubo con medio de cultivo. Se ha depositado con el ápice hacia arriba para facilitar el crecimiento armónico del tejido. Inmediatamente después se tapó el tubo con polietileno termocontráctil que permitió el intercambio gaseoso con el ambiente. La técnica fue la misma para los 3 tratamientos y se desarrolló con la ayuda de un estereoscopio. El tamaño promedio del meristema fue menor 0.5 milímetros para los tres tratamientos, siguiendo el método de (Mellor y Stace-Smith, 1970; Awan et col., 2007).

#### **2.4.6.2 Preparación de los medios de cultivo**

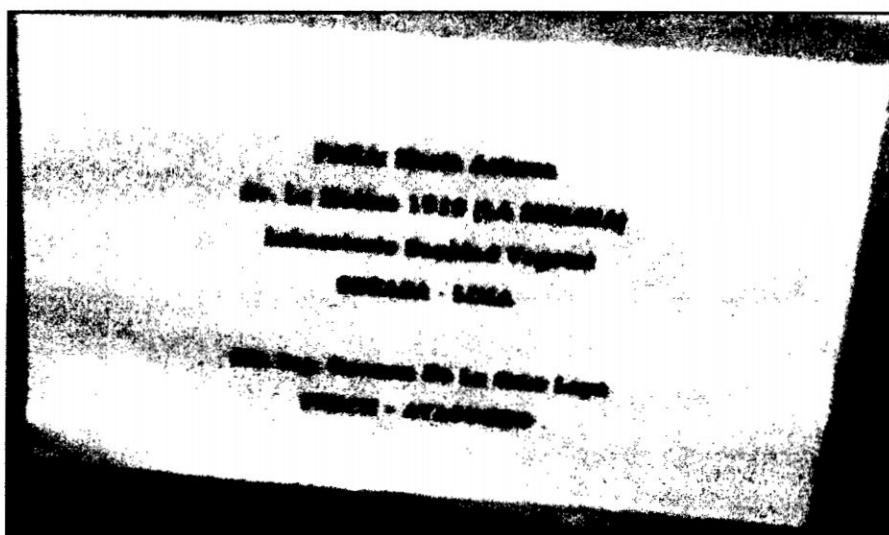
El medio utilizado para el cultivo de esquejes iniciales fue el recomendado por el CIP, que corresponde al medio Murashige y Skoog (1977), suplementado con 0.25 ppm de ácido giberélico (GA3), 2 ppm de ácido D-Pantoténico, 3 % de sucrosa y 0.6 % de agar. Este medio se esterilizó en autoclave a 15 PSI, y 121 °C durante 15 minutos.

#### **2.4.6.3 Condiciones de cultivo**

Los tubos de ensayo con sus plántulas derivados de la extracción de meristemas fueron colocados bajo luz continua de alta intensidad. La temperatura media del cuarto de cultivo fue de 24 °C, con máximas de 28 °C y mínimas de 18 °C. Las plantas obtenidas de la extracción de meristemas por las dos metodologías y la interacción fueron transferidas cada 30 días a nuevos medios.

#### **2.4.7 PRUEBA SEROLÓGICA (DAS-ELISA)**

Hojas de plantas de papa de maceteros con síntomas y asintomáticas se han recogido, etiquetado y colocado en bolsas de plástico. Una muestra consistió de 12 hojas de 6 plantas del macetero, dos hojas por planta, uno de la parte superior y otro de la parte inferior de la planta. Las muestras recolectadas fueron guardadas en una caja de tecnoport con gel pack y enviado al Laboratorio de Virología de SENASA Lima. La prueba para la infección por el virus fue realizado usando el sándwich de doble anticuerpo método de (DAS-ELISA) descrito por Clark y Adams (1977). Las muestras fueron probadas para la presencia de los virus más importantes de papa PVX, PVY, PLRV, en el Laboratorio de Virología del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) – Lima.



**Fotografía N° 2.5.** Cajita de envío a SENASA, Lima conteniendo las muestras (hojas) de las papas nativas en gel pack.

## **CAPITULO III**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **3.1. DE LA IDENTIFICACIÓN DE VIRUS EN TRES VARIEDADES NATIVAS DE PAPA, POR LA TÉCNICA SEROLÓGICA DE ELISA.**

En el cuadro N° 3.1 se muestra el resumen de los resultados del análisis serológico ELISA. Se observa que las papas nativas “Leona” (L), “Sangre de toro” (ST) y “Cceccorani” (CC), estuvieron infectadas con el virus PVY y están libres de los virus PVX y PLRV; en el reporte virológico de la página 58, se adjunta el certificado de SENASA – Lima, el cual nos demuestra que fue oportuno llevar las plantas de papa en maceteros al campo cultivado con la variedad Canchan, donde aumentó la carga viral en forma natural a través de los diferentes insectos vectores. Así mismo Palomino, (2008) estudiando virus en las papas nativas de la Provincia de Canchis, entre los 3650 y 4050 m.s.n.m reportó la infección por virus PVY entre 2 a 17 % de los cultivares evaluados por lote y zona. Así mismo Bertschinger, *et al.* (1990) en estudios de incidencia de virus de papa en cultivares nativos y mejorados en la sierra peruana encontró resultados

muy interesantes: en promedio de 62 a 98% de infección de virus por zona; siendo PVX el virus de mayor incidencia de (37-82%), seguido por PVS (19-53%); la incidencia promedio de PLRV y PVY fue de 0.7-6.8.

Sangar *et al.*, (1988). Se observó la aparición de virus de la papa, incluyendo virus Y de la papa (PVY) en campos comerciales (Nascimento *et al*, 2003. ; Biswas *et al.*, 2005), con infecciones únicas y mixtas.

Reporte de análisis virológico en tres variedades de papas nativas.  
Servicio Nacional de Sanidad Agraria- Lima, Perú.



SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL

Av. La Molina N° 1915, Lima 12 - Perú

Teléfono directo: 313- 3303

Central telefónica 313- 3300 Anexos: 1400 - 1401

Pag. Web: www.senasa.gob.pe

Ministerio de Agricultura

**SENASA**  
Servicio Nacional de Sanidad Agraria  
**PERU**

Pag. 1 de 1

**INFORME DE ENSAYO N° 112666 - 2013 - AG-SENASA-OCDP-UCDSV**

1. Información del solicitante: N° de Solicitud: 112516 - 2013  
 Nombre: ASOCIACION DE PRODUCTORES AGROPECUARIOS LA ANDINA DE MARCARA  
 Dirección: HUAMANGA - Ayacucho / Huamanga / Ayacucho  
 N° Expediente: Origen Material Vegetal: PERU

2. Información de la Actividad  
 Servicio Externo

3. Fecha de Recepción de la muestra: Procedencia de la muestra: País:  
 25/10/2013 09:11 Ayacucho / Huamanga / Ayacucho PERU

4. Cultivo:  
 Nombre Científico: *Solanum tuberosum*  
 Nombre Común: Papa Cultivar: PAPA 0 L ST CC C1 C2

5. Resultado por Método de Ensayo:

**VIROLOGIA** Código Muestra: 201311251601000 Tipo: HOJA Cantidad: 10Unds  
 MET-UCDSV/Vir-002 DAS-ELISA PARA DETECCIÓN DE VIRUS FITOPATÓGENOS EN MATERIAL VEGETAL

Fecha de Recepción : 25/10/2013

Fecha de Término: 25/10/2013


N°	Resultado	Información
1	Negativo a la presencia de	Potato leaf roll virus
2	Negativo a la presencia de	Potato virus X
3	Positivo a la presencia de	Potato virus Y



6. Muestreo: No Aplica

7. Información adicional:

Lugar y Fecha:  
 La Molina, 28 de Octubre del 2013

  
 Nombre y Firma del Encargado (SENASA Oficial)  
 Director

REG-UCDSV-003 del PRO-UCDSV-003, vigente.

NOTA: El Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal sólo se responsabiliza por los resultados emitidos de la muestra indicada en el punto 4 del presente Informe

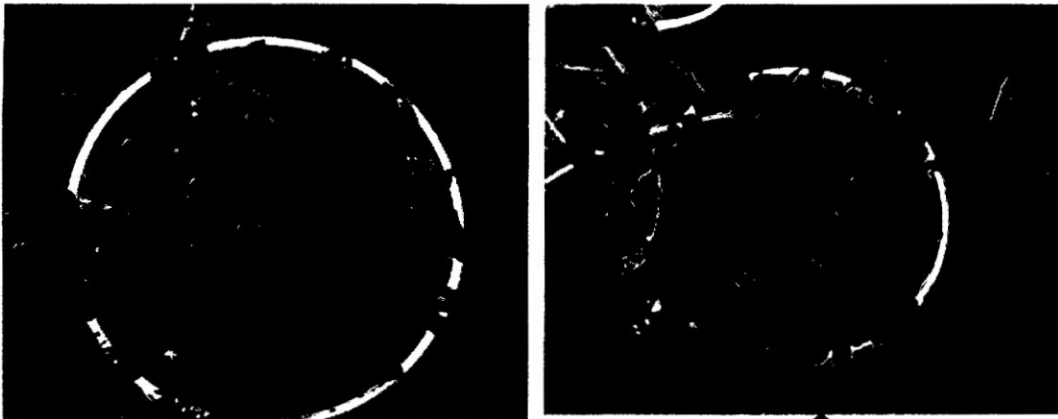
Fecha y Hora:  
 28/10/2013 17:53

**Cuadro N° 3.1.** Presencia del virus en plantas de papa nativa “Leona”, “Sangre de toro” y “Cceccorani” después de la inoculación en macetero.

Variedad	VIRUS		
	PVY	PVX	PLRV
“Leona”	+	-	-
“Sangre de toro”	+	-	-
“Cceccorani”	+	-	-

\*PVY: Potato virus Y; PVX: Potato virus X; PLRV: Potato leaf roll virus.

\*\* +: Reacción positiva, -: Reacción negativa.



**Fotografía N° 3.1** Síntomas ocasionados por PVY en plantas de papa nativa. A la izquierda planta con arrugamiento foliar, a la derecha síntomas con amarillamiento de venas, mosaico rugoso y enanismo.

PVY generalmente causan síntomas más leves en hojas, pero también se han encontrado aislamientos causando necrosis de tubérculos (Shubert *et al.*, 2007).

En los últimos años se ha detectado una variante denominada PVY<sup>NTN</sup>, serológicamente relacionada con PVY<sup>N</sup>, pero que causa anillos necróticos en tubérculos de papa, enfermedad conocida como PTNRD y que puede ocasionar pérdidas hasta del 100% en este cultivo (Kogovsek *et al.*, 2008).

### 3.2. DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LA TERMOTERAPIA Y ELECTROTHERAPIA PARA LA LIBERACIÓN DE VIRUS EN PAPAS NATIVAS.

#### 3.2.1. Supervivencia de papas nativas al tratamiento con termoterapia.

Las plantas detectadas con la infección viral por PVY sometidas al tratamiento de termoterapia (T1) por 35 días (37±2 °C), fueron micro cultivadas a partir de meristemas por 332 días; el porcentaje de supervivencia en condiciones de *in vitro* al final del periodo señalado fue de 80 % para la variedad "Leona", 30 % para la variedad "Sangre de toro" y 20 % para la variedad "Cceccorani" (cuadro 3.2).

**Cuadro N° 3.2.** Porcentaje de supervivencia de las plántulas *in vitro* de papas nativas que recibieron termoterapia.

N°	Fechas	Tiempo días	"Leona"	"Sangre de toro"	"Cceccorani"
1	08/12/2013	0	100	100	100
2	08/01/2014	31	80	90	70
3	04/04/2014	117	80	90	70
4	21/05/2014	164	80	70	60
5	29/07/2014	233	80	50	20
6	10/09/2014	276	80	40	20
7	05/11/2014	332	80	30	20

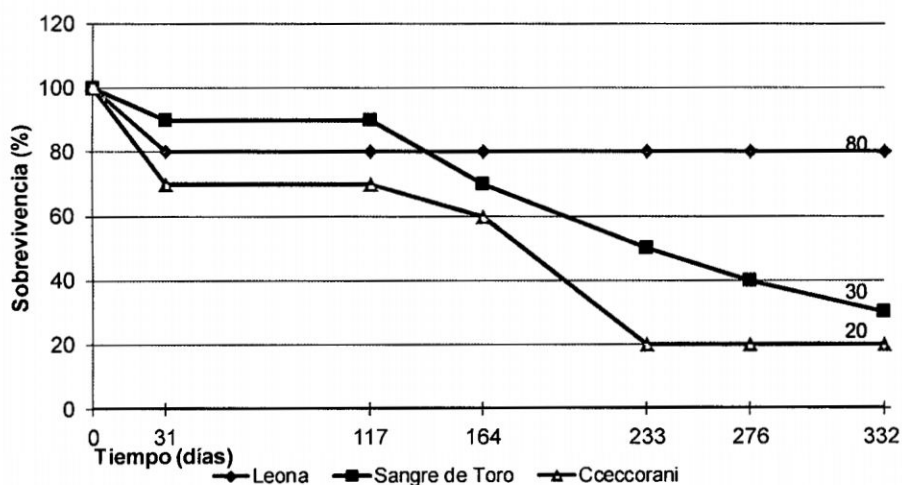
La supervivencia de plantas liberadas de virus después de la termoterapia y el cultivo de meristemas varía entre 5 y 85%; sin embargo, estas plantas contienen un bajo nivel de virus que generalmente son indetectables si las

plantas son probadas después de la propagación, por lo que requieren ser probadas por varios ensayos sucesivos basados en métodos de detección sensibles (Dunez, 1987).

El determinar la tolerancia al calor de la especie vegetal, es importante pues entre más amplia sea la diferencia entre el punto termal de la muerte del patógeno y del hospedero, mayor posibilidad de éxito se tiene al aplicar la termoterapia (Boks 1980 citado por Estrella, 1985).

Sabry, *et al* (2009), experimento con 14 plantas infectadas con el virus PVY, fueron transferidos a cámara de crecimiento a  $37 \pm 2$  °C, donde permanecieron por 40 días, luego fueron micro cultivadas a partir de meristemas, de las cuales sobrevivió 6 plántulas que representa el 43% de sobrevivencia. Asimismo aplicando temperatura constante de 37 °C y luz constante las 24 horas durante un periodo de 32 días, luego micro cultivadas por 144 días, de los 96 meristemas cultivados *in vitro* se obtuvo 16.66% de sobrevivencia. (Zuñiga, 1990).

Así mismo Delgado *et al.* (2010) aplicando temperatura constante de 38 °C por 40 días logró una sobrevivencia de 95%, con alternancia de 38 °C 16 horas y 30 °C 8 horas durante 55 días sobrevivió el 100 % de plantas, 7 días a 30 °C; 14 días a 36 °C y 21 días a 38 °C sobrevivió 85 % de plantas.



**Figura N° 3.2.** Porcentaje de sobrevivencia de plántulas de papa nativa en condiciones *in vitro*, luego de 332 días después de termoterapia.

En el cuadro N° 3.2 y la figura N° 3.2 se presenta la tendencia de sobrevivencia de las plántulas de papas nativas en condiciones *in vitro* hasta los 332 días después de haber recibido termoterapia. La variedad “Leona” tuvo un comportamiento estable a partir de los 31 días y ha tenido mayor sobrevivencia respecto a “Sangre de toro” y “Cceccorani” que disminuyeron su porcentaje de sobrevivencia; la variedad “Cceccorani” ha mostrado menor sobrevivencia.

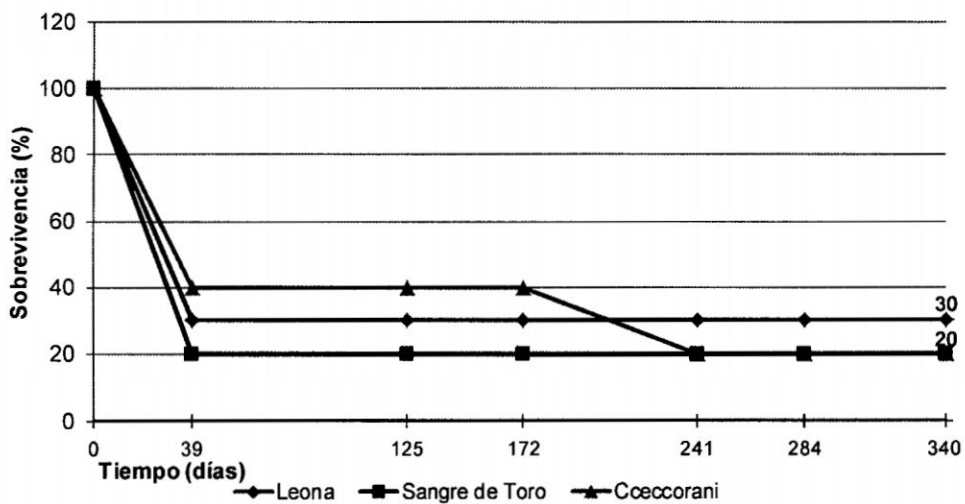
### **3.2.2. Sobrevivencia de papas nativas al tratamiento con electroterapia.**

Las plantas detectadas con la infección viral por PVY se sometieron al tratamiento de electroterapia (T2) con 12 miliamperios por 5 minutos, luego micro cultivadas a partir de meristemos por 340 días el porcentaje de sobrevivencia en condiciones de *in vitro* fue de 30 % para la variedad “Leona”, 20 % para la variedad “Sangre de toro” y 20 % para la variedad “Cceccorani” (cuadro N° 3.3).

Sabry *et al.* (2009) probando electroterapia en plantas de papa infectados con virus PVY con (5,10 y 15 mA) por 5 y 10 minutos logró una sobrevivencia desde 0% hasta 30%, con 15 mA durante 10 minutos fue 0% de sobrevivencia y con 5 mA por 5 minutos 30% de sobrevivencia.

**Cuadro N° 3.3.** Porcentaje de sobrevivencia de las plántulas *in vitro* de papas nativas que recibieron electroterapia.

Nº	Fechas	Tiempo días	“Leona”	“Sangre de toro”	“Cceccora ni”
1	30/11/2013	0	100	100	100
2	08/01/2014	39	30	20	40
3	04/04/2014	125	30	20	40
4	21/05/2014	172	30	20	40
5	29/07/2014	241	30	20	20
6	10/09/2014	284	30	20	20
7	05/11/2014	340	30	20	20



**Figura N° 3.3.** Porcentaje de sobrevivencia de plántulas de papas nativas condiciones *in vitro*, luego de 340 días después de electroterapia.

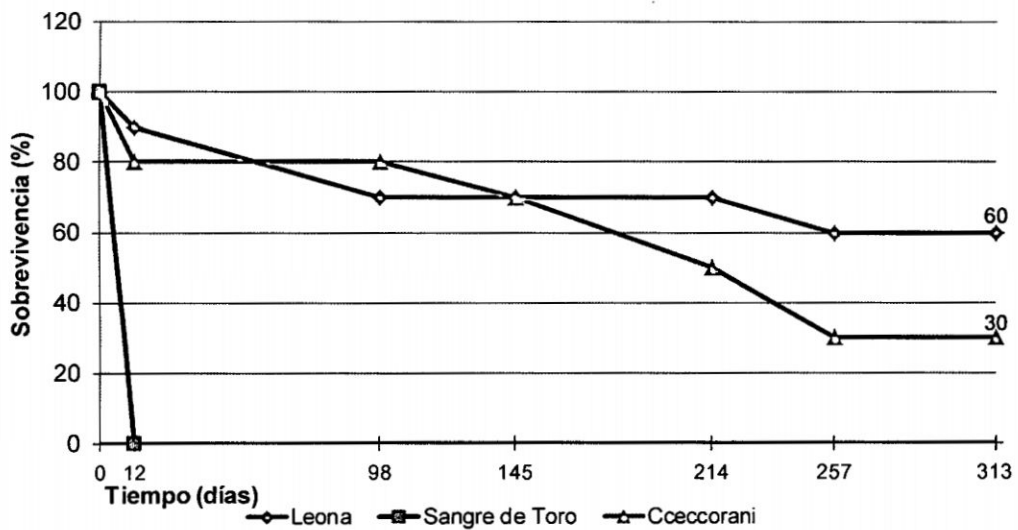
En el cuadro N° 3.3 y figura N° 3.3 se presenta la tendencia de sobrevivencia de las plántulas de papas nativas en condiciones *in vitro* después de 340 días de haber recibido electroterapia. La variedad “Leona” ha tenido mayor sobrevivencia respecto a “Sangre de toro” y “Cceccorani”.

### 3.2.3. Sobrevivencia de papas nativas al tratamiento con termoterapia y electroterapia.

Las plantas detectadas con la infección viral por PVY se sometieron al tratamiento de termoterapia por 35 días, luego a electroterapia con 12 miliamperios por 5 minutos (T3), luego de haber sido microcultivadas a partir de meristemas por 313 días, el porcentaje de sobrevivencia en condiciones de *in vitro* fue de 60 % para la variedad “Leona”, 0 % para la variedad “Sangre de toro” y 30 % para la variedad “Cceccorani” (cuadro 3.4).

**Cuadro N° 3.4.** Porcentaje de sobrevivencia de las plántulas *in vitro* de papa nativa que recibieron termoterapia y electroterapia.

N°	Fechas	Tiempo días	“Leona”	“Sangre de toro”	“Cceccorani”
1	27/12/2013	0	100	100	100
2	08/01/2014	12	90	0	80
3	04/04/2014	98	70	0	80
4	21/05/2014	145	70	0	70
5	29/07/2014	214	70	0	50
6	10/09/2014	257	60	0	30
7	05/11/2014	313	60	0	30



**Figura N° 3.4.** Porcentaje de sobrevivencia de plántulas de papa nativa en condiciones *in vitro*, luego de 313 días después de termoterapia y electroterapia.

En el cuadro N° 3.4 y figura N° 3.4 se presenta la tendencia de sobrevivencia de las plántulas de papas nativas en condiciones *in vitro* después de 313 días de haber recibido termoterapia y electroterapia. La variedad “Leona” ha tenido mayor sobrevivencia respecto a “Cceccorani”, mientras “Sangre de toro” no sobrevivió.

### 3.2.4. EFICIENCIA DE LA TERMOTERAPIA Y ELECTROTERAPIA

#### 3.2.4.1. Sobrevivencia

Para determinar la eficacia de la termoterapia y electroterapia en la liberación de virus, se ha considerado dos modelos de análisis de variancia, (1° modelo) se tomó la fuente de variación variedad como criterio de bloqueo (“Leona” y “Cceccorani”) y la fuente de variación tratamientos de liberación de virus, con el objetivo de analizar las

diferencias entre estos, (2º modelo) se consideró a la fuente de variación tratamiento de liberación de virus como criterio de bloqueo (Termoterapia y Electroterapia) y la fuente de variación variedad con el objetivo de analizar las diferencias entre estas. En los casos de las variables porcentaje de sobrevivencia y porcentaje libre de virus de las plántulas sobrevivientes, previamente los datos fueron transformados mediante raíz cuadrada de  $(Y/100)$ , para disminuir el coeficiente de variación elevado.

**Cuadro 3.5.** Análisis de variancia del porcentaje de sobrevivencia para los tratamientos de termoterapia y electroterapia, para la liberación de virus PVY en variedades de papa nativa (*Solanum* spp). Modelo 1.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Fc
Variedad	1	0.1000	0.1000	6.50 NS
Tratamiento	2	0.0380	0.0190	1.23 NS
Error	2	0.0308	0.0154	
Total	5	0.1687		

CV (%) = 20.35

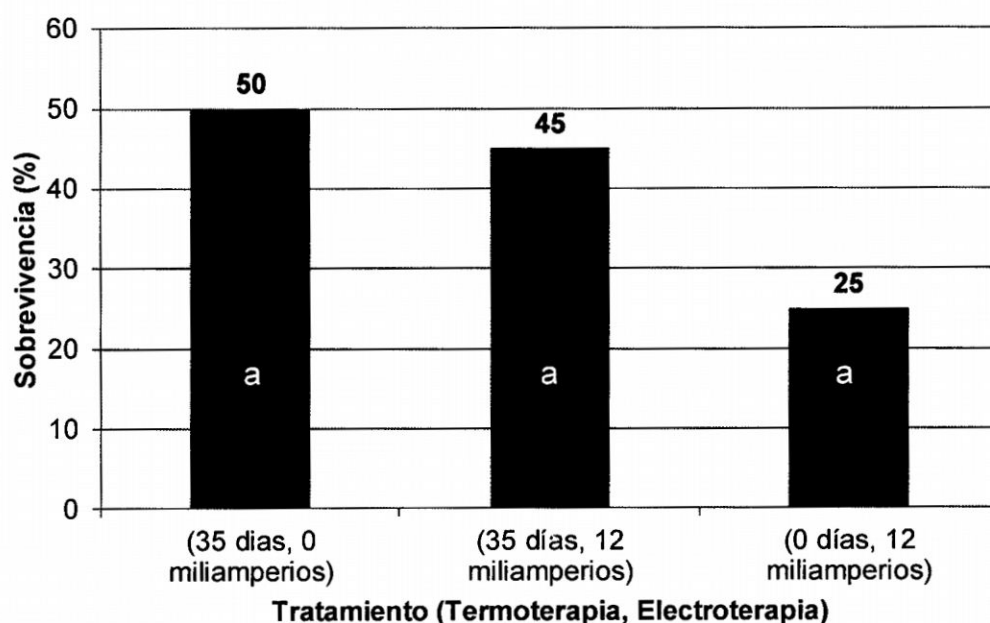
Promedio = 40.0

El análisis de variancia que se observa en el cuadro 3.5, indica que no existe diferencia significativa ( $p: 0.05$ ) entre los tres tratamientos de liberación de virus para el variable porcentaje de sobrevivencia.

**Cuadro 3.6.** Prueba de Tukey (p: 0.05) del porcentaje de sobrevivencia para los tratamientos de tiempo de termoterapia y electroterapia, para la liberación de virus PVY en promedio de tres variedades de papa nativa (*Solanum spp*).

Tratamiento	Tiempo termoterapia días	Electroterapia miliamperios	Promedio de sobrevivencia		Tukey (p: 0.05)
			raíz(Y/100)	Y	
t01	35	0	0.6708	50.0	A
t03	35	12	0.6612	45.0	A
t02	0	12	0.4975	25.0	A

ALS (T) = 0.731



**Figura 3.5.** Prueba de Tukey (p: 0.05) del porcentaje de sobrevivencia para los tratamientos de tiempo de termoterapia y electroterapia, para la liberación de virus PVY en promedio de tres variedades de papa nativa (*Solanum spp*)

En el cuadro 3.6 y figura 3.5 se puede apreciar que los tratamientos de liberación de virus no existe diferencia significativa estadísticamente (p:

0.05) en el promedio de porcentaje de sobrevivencia, siendo los valores de 50 % para el tratamiento de termoterapia, 45 % para el tratamiento de termoterapia + electroterapia y 25 % para el tratamiento de electroterapia, se concluye que los tres tratamientos tienen la misma eficiencia (p: 0.05) en la liberación de virus PVY. Los valores observados del porcentaje de sobrevivencia tienen diferencia aritmética pero no estadística.

**Cuadro 3.7.** Análisis de variancia del porcentaje de sobrevivencia para las variedades “Leona”, “Sangre de toro” y “Cceccorani” (*Solanum* spp) en tratamientos de termoterapia y electroterapia, para la liberación de virus PVY. Modelo 2.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Fc
Tratamiento	1	0.033	0.033	2.100 NS
Variedad	2	0.085	0.043	2.670 NS
Error	2	0.032	0.016	
Total	5	0.150		

CV (%) = 22.72

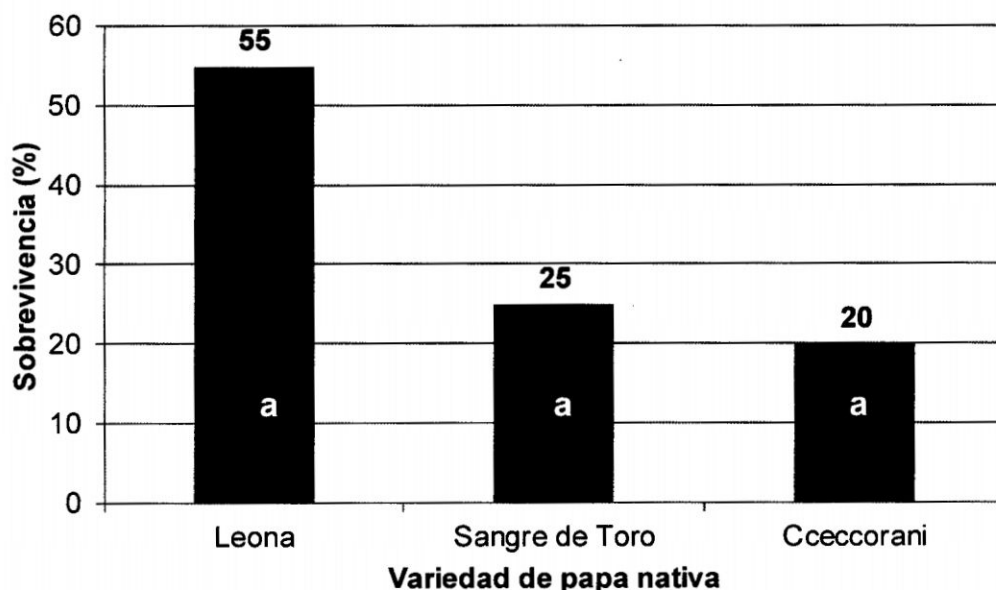
Promedio = 33.33

El análisis de variancia que se observa en el cuadro 3.7, indica que no existe diferencia estadística significativa entre las tres variedades para la variable sobrevivencia.

**Cuadro 3.8.** Prueba de Tukey (p: 0.05) del porcentaje de sobrevivencia para las variedades de papa nativa (*Solanum* spp), para la liberación de virus PVY.

Variedad	Promedio de sobrevivencia		Tukey (p: 0.05)
	raíz(Y/100)	Y	
“Leona”	0.7211	55.0	A
“Sangre de toro”	0.4975	25.0	A
“Cceccorani”	0.4472	20.0	A

ALS (T) = 0.743



**Figura 3.6.** Prueba de Tukey del porcentaje de sobrevivencia para las variedades papa nativa (*Solanum* spp), para la liberación de virus PVY.

En el cuadro 3.8 y figura 3.6 se puede apreciar que el promedio de porcentaje de sobrevivencia en las variedades no existe diferencia estadística significativa (p: 0.05) siendo los valores de 55 % para la variedad “Leona”, 25 % para la variedad “Sangre de toro” y 20 % para la variedad “Cceccorani”.

### 3.2.4.2. LONGITUD FOLIAR

En el cuadro 3.10, se observa que las plántulas de la variedad "Leona" y "Cceccorani" sobrevivientes al tratamiento (T3) con (37+2 °C por 35 días más 12 miliamperios por 5 minutos) tuvo un crecimiento foliar promedio de 75 mm, seguido por el tratamiento (T2) con (12 mA por 5 minutos) que obtuvo un crecimiento foliar de 67.5 mm y el tratamiento (T1) con (37+2°C por 35 días), alcanzó en promedio 60 mm de longitud foliar: al realizar el ANVA (P: 0.05), se determinó que no existe significación estadística para los tratamientos (letras iguales indican la no diferencia estadística).

**Cuadro 3.9.** Análisis de variancia de la longitud foliar para los tratamientos de tiempo de termoterapia y electroterapia, para la liberación de virus PVY en variedades de papa nativa (*Solanum spp*). Modelo 1.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Fc
Variedad	1	468.17	468.17	6.87 NS
Tratamiento	2	225.00	112.50	1.65 NS
Error	2	136.33	68.17	
Total	5	829.50		

CV (%) = 12.23

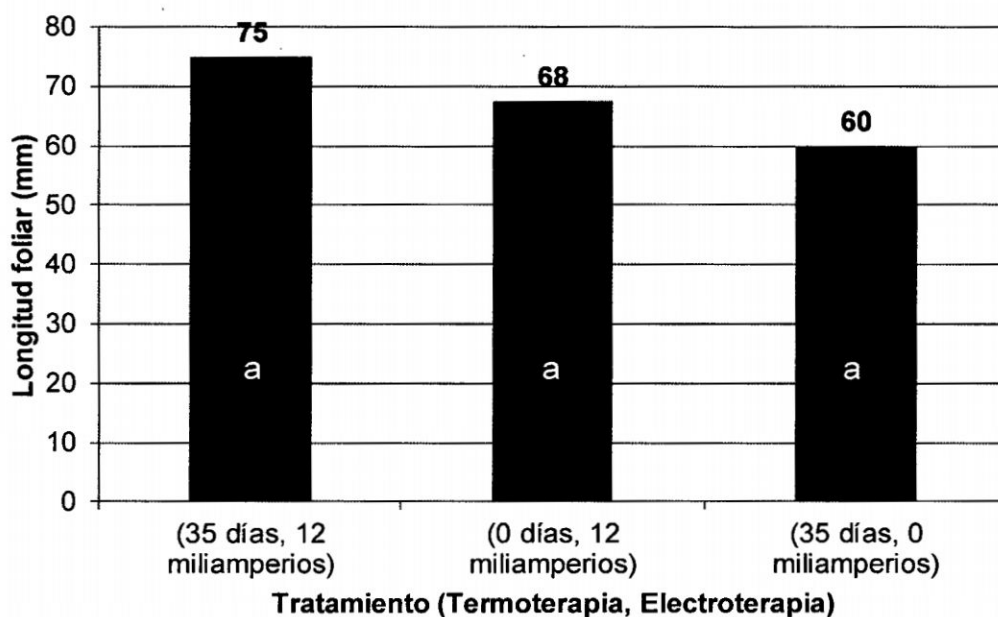
Promedio = 67.50

El análisis de variancia que se observa en el cuadro 3.9, indica que no existe diferencia significativa entre los tres tratamientos de liberación de virus para la variable longitud foliar.

**Cuadro 3.10.** Prueba de Tukey (p: 0.05) de la longitud foliar para los tratamientos de tiempo de termoterapia y electroterapia, para la liberación de virus PVY en promedio de tres variedades de papa nativa (*Solanum* spp).

Tratamiento	Tiempo termoterapia Dias	Electroterapia miliamperios	Promedio mm	Tukey (p: 0.05)
t01	35	0	60.0	A
t02	0	12	67.5	A
t03	35	12	75.0	A

ALS (T) = 48.636



**Figura 3.7.** Prueba de Tukey de la longitud foliar para los tratamientos de tiempo de termoterapia y electroterapia, para la liberación de virus PVY en promedio de tres variedades de papa nativa (*Solanum* spp).

En el cuadro 3.10 y figura 3.7 se puede apreciar que los tratamientos de liberación de virus no se diferencian significativamente en el promedio de la longitud foliar, siendo los valores de 75 mm para el tratamiento de

termoterapia + electroterapia, 67.5 mm para el tratamiento de electroterapia y 60 mm para el tratamiento de termoterapia.

Zuñiga, (1990) después de haber cultivado meristemas por 144 días, luego del tratamiento con termoterapia (37 °C) durante 32 días, logró un crecimiento foliar promedio de 80 mm. Así mismo, Almaarri et, al. (2012), usando meristemas (0.3 mm) logró una longitud foliar de (99 mm) en Burren y (96 mm) en Binella después de 60 días mientras con el uso de meristemas (0.1 mm) las longitudes foliares fueron más baja, logrando (54 mm) en Burren y (49 mm) en Binella.

**Cuadro 3.11.** Análisis de variancia de la longitud foliar para las variedades de papa nativa (*Solanum* spp) en tratamientos de tiempo de termoterapia y electroterapia, para la liberación de virus PVY. Modelo 2.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Fc
Tratamiento	1	4.167	4.167	0.020 NS
Variedad	2	286.333	143.167	0.750 NS
Error	2	384.333	192.167	
Total	5	674.833		

CV (%) = 21.38

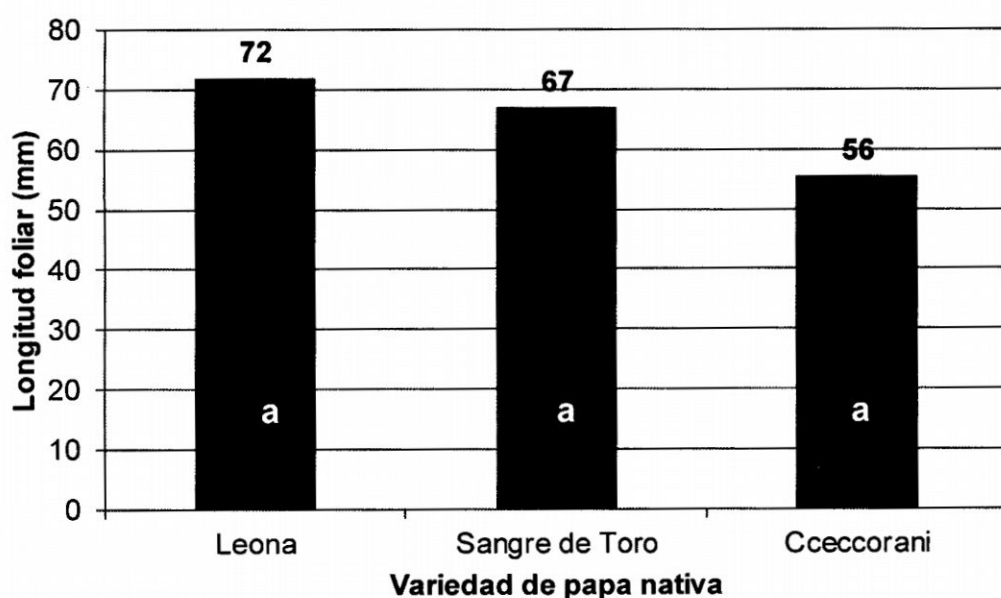
Promedio = 64.83

El análisis de variancia que se observa en el cuadro 3.11, indica que no existe diferencia significativa estadísticamente (p: 0.05) entre las tres variedades para la variable longitud foliar.

**Cuadro 3.12.** Prueba de Tukey de la longitud foliar para los tratamientos las variedades papa nativa (*Solanum spp*), para la liberación de virus PVY.

Variedad	Promedio (mm)	Tukey (p: 0.05)
"Leona"	72.0	A
"Sangre de Toro"	67.0	A
"Cceccorani"	55.5	A

ALS (T) = 81.66



**Figura 3.8.** Prueba de Tukey de la longitud foliar para las variedades papa nativa (*Solanum spp*), para la liberación de virus PVY.

En el cuadro 3.12 y figura 3.8 se puede apreciar que las variedades no se diferencian significativamente en el promedio de longitud foliar, siendo los valores de 72.0 mm para la variedad "Leona", 67.0 mm para la variedad "Sangre de toro" y 55.5 para la variedad "Cceccorani".

### 3.4.2.3. NÚMERO DE ENTRENUDOS

En el cuadro 3.14, se observa que las plántulas de la variedad "Leona" y "Cceccorani" sobrevivientes al tratamiento (T2) con (12 mA por 5 minutos) tuvo 9 entrenudos en promedio, seguido por tratamiento (T3) con (37±2 °C por 35 días más 12 miliamperios por 5 minutos) que obtuvo 8.5 entrenudos en promedio, finalmente el tratamiento (T1) con (37±2°C por 35 días), alcanzó 7.5 entrenudos en promedio: al realizar el ANVA (P: 0.05), se determinó que no existe significación estadística para los tratamientos (letras iguales indican la no diferencia estadística).

**Cuadro 3.13.** Análisis de variancia del número de entrenudos para los tratamientos de tiempo de termoterapia y electroterapia, para la liberación de virus PVY en variedades de papa nativa (*Solanum* spp) Modelo 1.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Fc
Variedad	1	10.667	10.667	4.92 NS
Tratamiento	2	2.333	1.167	0.54 NS
Error	2	4.333	2.167	
Total	5	17.333		

CV (%) = 17.66

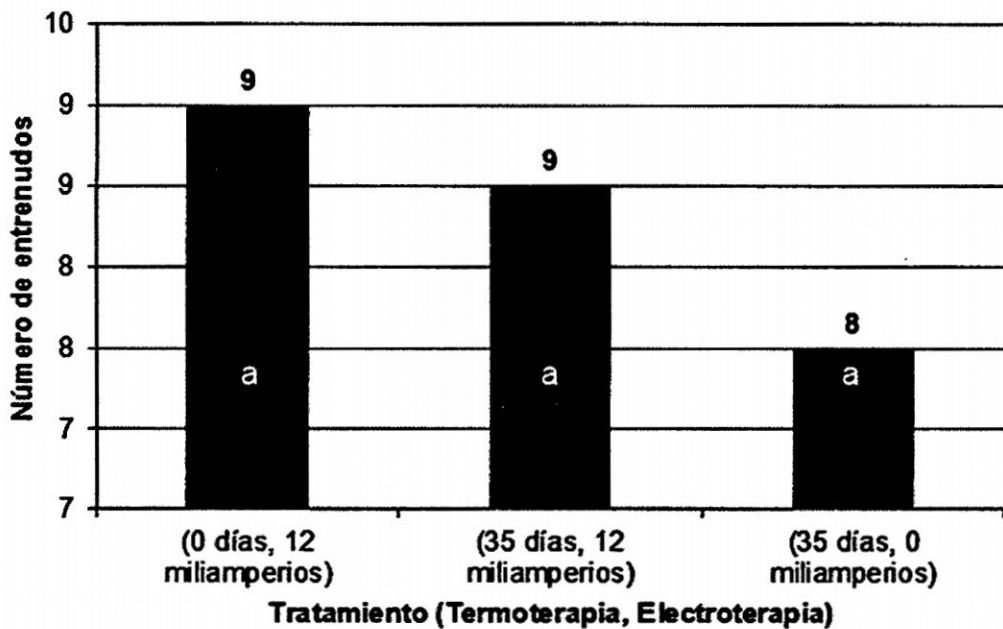
Promedio = 8.33

El análisis de variancia que se observa en el cuadro 3.13, indica que no existe diferencia estadística significativa entre los tres tratamientos de liberación de virus para el variable número de entrenudos.

**Cuadro 3.14.** Prueba de Tukey ( $p; 0.05$ ) del número de entrenudos para los tratamientos de tiempo de termoterapia y electroterapia, para la liberación de virus PVY en promedio de tres variedades de papa nativa (*Solanum* spp).

Tratamiento	Tiempo termoterapia días	Electroterapia miliamperios	Promedio número de entrenudos	Tukey ( $p: 0.05$ )
t02	0	12	9.0	A
t03	35	12	8.5	A
t01	35	0	7.5	A

ALS (T) = 48.636



**Figura 3.9.** Prueba de Tukey del número de entrenudos para los tratamientos de tiempo de termoterapia y electroterapia, para la liberación de virus PVY en promedio de tres variedades de papa nativa (*Solanum* spp).

En el cuadro 3.14 y figura 3.9 se puede apreciar que los tratamientos de liberación de virus no se diferencian significativamente en el promedio de

número de entrenudos, siendo los valores de 9.0 para el tratamiento de electroterapia, 8.5 para el tratamiento de termoterapia + electroterapia y 7.5 para el tratamiento de termoterapia.

**Cuadro 3.15.** Análisis de variancia del número de entrenudos para las variedades de papa nativa (*Solanum* spp) en tratamientos de tiempo de termoterapia y electroterapia, para la liberación de virus PVY. Modelo 2.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Fc
Tratamiento	1	0.667	0.667	0.08 NS
Variedad	2	26.333	13.167	1.61 NS
Error	2	16.333	8.167	
Total	5	43.333		

CV (%) = 30.61

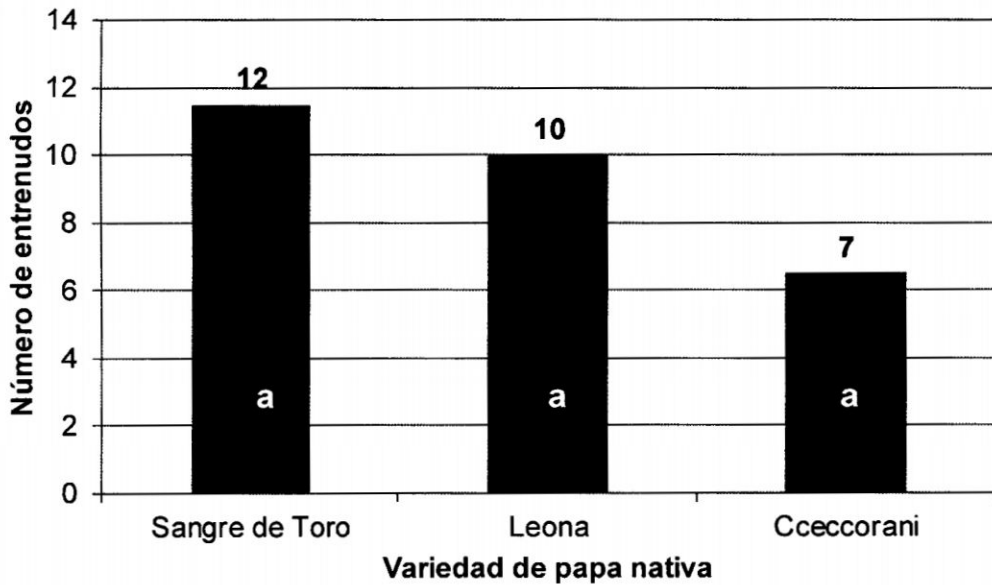
Promedio = 9.33

El análisis de variancia que se observa en el cuadro 3.15, indica que no existe diferencia significativa entre las tres variedades para el variable número de entrenudos.

**Cuadro 3.16.** Prueba de Tukey (p: 0.05) del número de entrenudos para los tratamientos las variedades papa nativa (*Solanum* spp), para la liberación de virus PVY.

Variedad	Promedio número de entrenudos	Tukey (p: 0.05)
"Sangre de Toro"	11.5	A
"Leona"	10.0	A
"Cceccorani"	6.5	A

ALS (T) = 48.636



**Figura 3.10.** Prueba de Tukey del porcentaje de sobrevivencia para las variedades papa nativa (*Solanum* spp), para la liberación de virus PVY. En el cuadro 3.16 y figura 3.10 se puede apreciar que las variedades no se diferencian significativamente en el promedio de número de entrenados, siendo los valores de 11.5 para la variedad “Sangre de toro”, 10.0 para la variedad “Leona” y 6.5 para la variedad “Cceccorani”.

#### 3.2.4.4. PORCENTAJE LIBRE DE VIRUS

En el cuadro 3.18, se observa que las plántulas de la variedad “Leona” y “Cceccorani” sobrevivientes a los tratamientos (T2), con (12 mA por 5 minutos), tratamiento (T3) con (37±2 °C por 35 días más 12 miliamperios por 5 minutos), finalmente el tratamiento (T1) con (37±2°C por 35 días): lograron limpiar el virus (PVY) de la papa en 100%. Mientras la variedad “Sangre de toro” sobreviviente a los tratamientos (T1 y T2) solo estuvo libre de virus en un 50%.

**Cuadro 3.17.** Análisis de variancia del porcentaje libre de virus para los tratamientos de tiempo de termoterapia y electroterapia, para la liberación de virus PVY en variedades de papa nativa (*Solanum* spp) Modelo 1.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Fc
Variedad	1	0.000	0.000	NS
Tratamiento	2	0.000	0.000	NS
Error	2	0.000	0.000	
Total	5	0.000		

CV (%) = 0.00

Promedio = 100.00

El análisis de variancia que se observa en el cuadro 3.17, indica que no existe diferencia significativa entre los tres tratamientos de liberación de virus para la variable porcentaje libre de virus.

Para papa, Yi *et al.* (2003) y Dhital *et al.* (2008) , informaron de PVX, PVY y PLRV eliminación en aproximadamente el 40% de las plantas regeneradas.

Zuñiga, (1990) aplicando termoterapia (37 °C) durante 32 días, logró eliminar el virus PVY en un 87.5% de las plantas sobrevivientes.

Sabry *et al.* (2009) aplicando termoterapia (37 °C) durante 40 y 30 días resulto en 33.3 y 14.2% de eliminación del virus PVY respectivamente.

Mientras probando electroterapia con (5, 10 y 15 mA), logró eliminar el virus PVY en un 53.8%, 72.7% y 87.5% respectivamente.

Los resultados de los diferentes investigadores mostraron que la tasa más alta de plantas libres de virus se obtuvo mediante el uso de explantes de 0.1 mm de longitud. La tasa de eliminación de PVY se mejoró después del

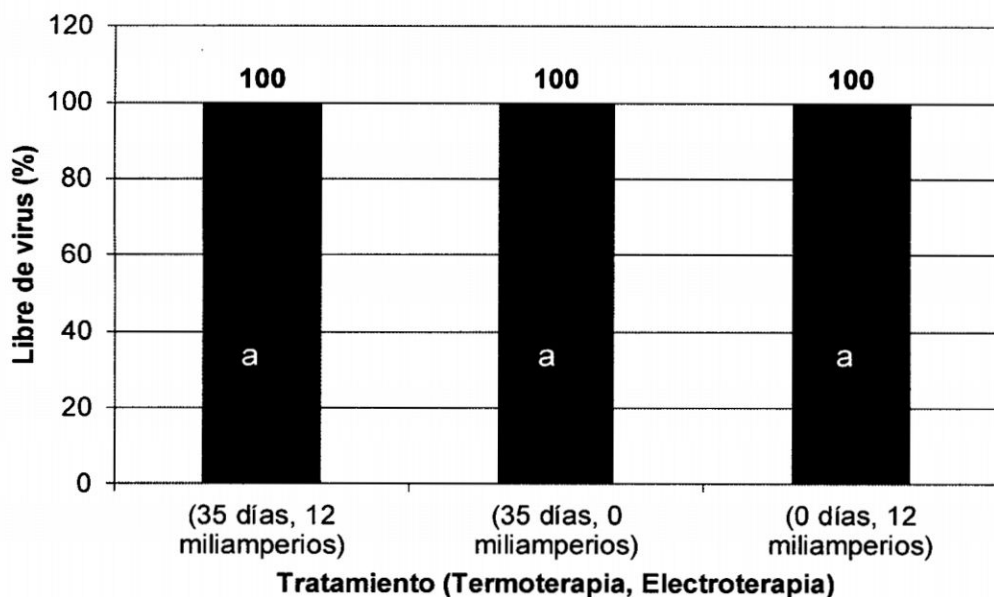
tratamiento por termoterapia aproximadamente a 37 +/- 1 °C durante 40 días, (81%) Binella y (75%) en Burren. K. Almaarri *et al* (2012),

Finalmente, los porcentajes más altos de plántulas libres de virus de PVY (93% en Binella y 87% en Burren) se obtuvieron a partir de meristemos de 0.1 mm de longitud y después de los tratamientos eléctricos (15 mA/ 10 minutos).

**Cuadro 3.18.** Prueba de Tukey del porcentaje libre de virus para los tratamientos de tiempo de termoterapia y electroterapia, para la liberación de virus PVY en promedio de tres variedades de papa nativa (*Solanum spp*).

<b>Tratamiento</b>	<b>Tiempo termoterapia días</b>	<b>Electroterapia miliamperios</b>	<b>Promedio (%) libre de virus.</b>	<b>Tukey (0.05)</b>
t03	35	12	100.0	A
t01	35	0	100.0	A
t02	0	12	100.0	A

ALS (T) = 0.00



**Figura 3.11.** Prueba de Tukey del porcentaje libre de virus para los tratamientos de tiempo de termoterapia y electroterapia, para la liberación de virus PVY en promedio de 3 variedades de papa nativa (*Solanum* spp).

En el cuadro 3.18 y figura 3.11 se puede apreciar que los tratamientos de liberación de virus no se diferencian significativamente en el promedio de porcentaje libre de virus, siendo valores de 100 % para cada tratamiento.

**Cuadro 3.19.** Análisis de variancia del porcentaje libre de virus para las variedades de papa nativa (*Solanum* spp) en tratamientos de tiempo de termoterapia y electroterapia, para la liberación de virus PVY. Modelo 2.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Fc	
Tratamiento	1	0.029	0.029	1.00	NS
Variedad	2	0.057	0.029	1.00	NS
Error	2	0.057	0.029		
Total	5	0.143			

CV (%) = 12.57

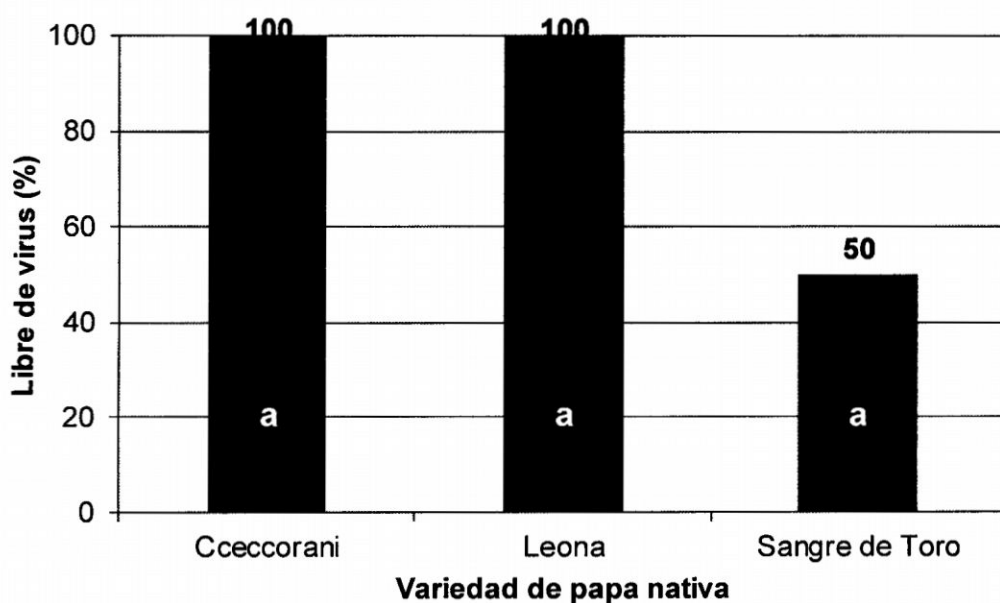
Promedio = 83.33

El análisis de variancia que se observa en el cuadro 3.19, indica que no existe diferencia significativa entre las tres variedades para la variable porcentaje libre de virus.

**Cuadro 3.20.** Prueba de Tukey (p: 0.05) del porcentaje libre de virus para los tratamientos las variedades papa nativa (*Solanum* spp), para la liberación de virus PVY.

Variedad	Promedio		Tukey (p: 0.05)
	Raíz (Y/100)	Y	
"Cceccorani"	1.414	100.0	A
"Leona"	1.414	100.0	A
"Sangre de toro"	1.207	50.0	A

ALS (T) = 0.996



**Figura 3.12.** Prueba de Tukey del porcentaje libre de virus para las variedades de papa nativa (*Solanum* spp), para la liberación de virus PVY.

En el cuadro 3.20 y figura 3.12 se puede apreciar que las variedades no existe diferencia significativa estadísticamente en el promedio de porcentaje de libre de virus, siendo los valores de 100 % para las variedades "Cceccorani" y "Leona", y 50 % para la variedad "Sangre de Toro" de las plántulas sobrevivientes.

## **CAPITULO IV**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

Considerando los resultados expuestos en la presente investigación y discusión realizada, se llegó a las siguientes conclusiones:

#### **4.1. CONCLUSIONES.**

1. Se identificó a través del método serológico DAS ELISA la presencia del virus Y de la papa (PVY) en las tres variedades nativas de papa "Leona", "Sangre de toro" y "Cceccorani" y no se ha identificado la presencia del virus (PVX).
2. Los tres métodos evaluados (termoterapia T1, electroterapia T2 y termoterapia más electroterapia T3) tienen la misma eficiencia en la limpieza viral (PVY) al reportar valores estadísticamente no significativos ( $p: 0.05$ ) en porcentaje de sobrevivencia, longitud foliar, número de entrenudos y porcentaje libre de virus de las plántulas sobrevivientes. Sin embargo los tres métodos de limpieza viral

mostraron diferencias aritméticas siendo termoterapia la de mayor valor de sobrevivencia seguido por el método que combina ambas terapias (termoterapia más electroterapia) y finalmente electroterapia.

#### **4.2. RECOMENDACIONES.**

En base a las conclusiones anteriores se recomienda:

1. Utilizar la presente metodología de aplicación de termoterapia y electroterapia para eliminar el virus Y de las papas nativas (*Solanum spp.*) para obtener porcentajes altos de plantas sanas de los virus (PVY), especialmente cuando los clones sean valiosos agronómicamente.
2. Probar esta técnica para la limpieza de otros virus de la papa, especialmente aquellos virus que muestran dificultad en su erradicación (PLRV) y cuando se encuentran mixtas (PLRV + PVY +PVX).

## RESUMEN

El presente trabajo de tesis titulado "Evaluación de los métodos, electroterapia y termoterapia para la liberación de virus PVY en tres variedades nativas de papa (*Solanum spp.*)". Se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Genética y Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. El objetivo fue identificar la presencia de virus en tres variedades nativas de papa "Leona", "Sangre de toro" y "Cceccorani" por la técnica serológica de (DAS ELISA), y determinar la eficiencia de la termoterapia y electroterapia para la liberación de virus PVY en papas nativas "Leona", "Sangre de toro" y "Cceccorani". Para ello se trabajó con 90 meristemas después de la aplicación de termoterapia, electroterapia y la interacción de ambos antes de la extracción de meristemas a plantas infectadas con (PVY) cultivadas en macetero, distribuidos al azar en tres tratamientos con 3 variedades que hacían de bloques y 10 meristemas por unidad experimental, usando el Diseño Completamente Randomizado (DCR). Los tratamientos fueron: T1 (37±2°C durante 35 días) termoterapia, T2 (12 mA por 5 minutos) electroterapia y T3 ((37±2°C durante 35 días) + (12 mA por 5 minutos)). Logrando la identificación de la presencia de virus PVY en las tres variedades de papa nativa, luego evaluando la eficiencia de las metodologías, se encontró una sobrevivencia promedio de 50 %, 25 % y 45 %; con longitud foliar de 60 mm, 67.5 mm y 75 mm, el número de entrenudos fueron 8, 9 y 9 en los tratamientos de T1, T2 y T3 respectivamente. Finalmente de estos el

porcentaje libre de virus (PVY) de las plántulas sobrevivientes fue 100 % para "Leona", 100 % para "Cceccorani" y solo 50 % para "Sangre de toro". Luego del análisis de variancias no se encontró diferencias significativas (p: 0.05) entre los tratamientos en los variables evaluados de porcentaje de sobrevivencia, longitud foliar, número de entrenudos y porcentaje libre de virus; sin embargo la variedad "Leona" respondió mejor en los tres tratamientos logrando 55 % de sobrevivencia, 72 mm de longitud foliar, 10 entrenudos y 100% libres de virus de las plántulas sobrevivientes, la variedad "Cceccorani" tuvo un comportamiento intermedio sobrevivió en los tres tratamientos logrando 20 % de sobrevivencia, 56 mm de longitud foliar, 7 entrenudos y 100% libres de virus de las plántulas sobrevivientes mientras "Sangre de toro" no sobrevivió al tratamiento T3, pero logró una sobrevivencia de 25 % en los otros 2 tratamientos, alcanzando 67 mm de longitud foliar, 12 entrenudos y solo el 50% libre de virus de las plántulas sobrevivientes, siendo parecido a los resultados encontrados en la revisión bibliográfica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. AGRIOS, G. 2005. Plant pathology. 5<sup>th</sup> ed. Elsevier, Academic Press, New York, NY.
2. AGRIOS. G. N. 1995. Fitopatología. Trad. Manuel Guzmán Ortiz. 2a ed. Ed. Limusa. México. 756 pp.
3. AHMAD, M. AND AHMAD, W. 1995. Detection of major potato viruses from different potato growing localities of Pujap. Natlsem. On Research and Development in Potato Poducción in Pakistan PSPDP/APC, Islamabad, Pakistan.
4. ANDRADE, H., PUMISACHO, M., Y SHERWOOD, S. 2002. La papa en Ecuador. En: El cultivo de la papa en Ecuador. Editores. INIAP-CIP. Quito. ECUADOR. P. 24.
5. Anónimo. 1979. Enciclopedia de la Ciencia y de la Técnica. 4\* ed. Ed. DANAE S. A. Barcelona, p 1066.
6. AWAN, A. R., MUGHAL, S.M., IFTIKHAR, Y. AND KHAN, H.Z. 2007. In vitro elimination of potato leaf roll polerovirus from potato varieties. Eur. J. Sci. Res., 18: 155-164.
7. BARKER, H., 1994. Incidente of potato virus Y infection seed and tubers of the potato CV. Recard. Ann. Applied Biol., 124: 179-183.
8. BERTSCHINGER, *ET AL.*, 1990. La incidencia de virus de papa en cultivares nativos y mejorados en la sierra peruana. Revista Latinoamericana de la Papa. 1990. 3(1):62-79.
9. BISWAS, M. K., BK. DE AND NATH, P.S. 2005. Rate of Spread of PVX, PVY and PLRV diseases to potato varieties. Ann. Plant protects. Sci., 13: 165-178.
10. BRUNA, A., ESCAFF, M., MUÑOZ, C. 1993. Obtención de ajos libres de virus mediante termoterapia y cultivo in vitro. En línea. Santiago de Chile. Chile. <http://www.sochifit.cl/pdf/II.pdf>, visto 11 de marzo 2015.
11. CÁRDENAS. S. E. 1992. Diagnóstico e identificación de virus en hortalizas. En: Manejo Fitosanitario de las Hortalizas en México. Ed. Centro de Entomología y Acarología. Chapingo. México, pp 327- 332.

12. CASSELS, A. C. AND LONG, R.D. 1982. The elimination of potato virus X, Y and M in meristem and explant cultures of potato in the presence of virazole. *Potato Res.*, 25: 165 – 173.
13. CASSELS, A. C., 1987. *In vitro* Induction of Virus-Free Potatoes by Chemotherapy. In: *Biotechnology in Agriculture and Forestry: 3* Potato Bajaj, Y.P.S (Ed). Springer-Verlage, UK. pp: 40-50.
14. CLARK, M.F.; ADAMS, A.N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzymelinked immunoabsorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology* 34:475-483.
15. CONCI, V. C. 1991. Virosis de ajo, diagnóstico y obtención de plantas libres. 1º y 2º curso taller sobre producción, comercialización e industrialización del ajo. INTA. Argentina, pp 56-59.
16. DAWSON, W. O., WHITE, J. L. AND GRANTHAM, G. L. 1978. Effect of heat treatment upon cowpea chlorotic mottle virus ribonucleic acid replication. *Phytopathology* 68: 1042-1048.
17. DE BOKX, J.A. AND HUTTINGAH, D. 1981. Potato virus Y. CMI/AAB descriptions of plant viruses' N° 242. Common Wealth Agricultural Bureaux/Association of Applied Biologists.
18. DELGADO, C; MONTEROS Y BENITEZ, J. 2010 Evaluación de tres sistemas de termoterapia y cultivo de meristemas en cuatro variedades promisorias de papas nativas (*Solanum spp*) para la erradicación de virus. Fecha de consulta 15 de diciembre 2014.  
[http://cipotato.org/wpcontent/uploads/Papanat%202010/9.%20Benitez%20termoterapia\\_virus.pdf](http://cipotato.org/wpcontent/uploads/Papanat%202010/9.%20Benitez%20termoterapia_virus.pdf).
19. DELGADO-SANCHEZ Y GROGAN, R.G 1970. Potato virus Y. Descriptions of Plant Viruses N° 37. Commonwealth Mycological Institute (Kew England)/Association of Applied Biologists.
20. DHITAL, S. P., LIM, H. T., SHARMA, B. P. 2008. Electrotherapy and chemotherapy for eliminating double-infected potato virus (PLRV and PVY) from in vitro plantlets of potato (*Solanum tuberosum* L.) *Hortic. Environ Biotechnol* 49: 52-57.

21. DUNEZ. J. 1987. Perspectives in the control of plant viruses, in: Innovative Approaches to Plant Disease Control. (Han Chct ed.) John Willey and sons. U.S.A. 372 p.
22. EGUSQUIZA, B. 2000. La papa producción, transformación y comercialización. Lima, 2000. Varias. p.
23. ESTRADA, R., N. 1999. La biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa. Proinpa; CIP; CID, La Paz.
24. ESTRELLA, M. 1985. Comparación de cinco métodos para erradicación de virus en papa. Tesis Ingeniero Agrónomo. Quito. Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Agrícolas. p 93.
25. FACCIOLI, G. AND RUBIES – AUTONELL, 1982. PVX and PVY distribution in potato meristem tips and their eradication by the use of thermotherapy and meristem – tip culture. *Phytopathol. Zeitchrift*, 103: 66-76.
26. FACCIOLI, G. AND COLOMBARINI, A. 1996. Correlación of potato virus S and virus M contents of potato meristem tips with the percentage of virus – free plantlets produced in vitro, *potato Res.*, 39: 139-140.
27. FARZANA, S., HOSSAIN, M. F., KABIR, M. AND SARKER, S. R. 2007. Callus induction and plant regeneration from intermodal and leaf explants of four potato (*Solanum tuberosum*) cultivars. *Worl J. Agric. Sci.*, 3: 1-6.
28. GANDARILLAS, A.; FRIBOURG, C.E. 1987. Diseminación de algunos virus de papa en dos regiones geográficas del Perú. *Fitopatología* 22(3):42.
29. GIBBS, A. J., HARRISON, B. D. (1976) *Plant virology: the principles*. Edward Arnold, London, p 292.
30. GINOZA, W. 1977. Inactivation by ionizing radiation and by heat. In: *Methods in Virology*. Vol. 6. K. Maramorosch and H. Koprowski. eds. Academic Press. New York, pp 180-209.

31. GLAIS, L., TRIBODET, M. & KERLAN, C. 2002. Genomic variability in potato potyvirus Y PVY: evidence that PVYNW and PVYNTN variants are single to multiple recombinants between PVYO and PVYNisolates. *Arch Virol* 147, 363–378.
32. GUERRERO. N. J. 1978. Búsqueda de recursos para mejorar la eficiencia de técnicas para erradicar virus en materiales vegetativos. Tesis de maestría. Colegio de postgraduados. Chapingo. México. 75 p.
33. GUTIÉRREZ, T. G. 2013 Caracterización Morfológica, Evaluación Agronómica y Ploidia de 60 Colecciones de papa nativa (*Solanum spp*). En Marcaya a 3660 m.s.n.m. Los Morochucos – Cangallo. Tesis para obtener el Grado de Ingeniero Agrónomo, UNSCH, Ayacucho – Perú.
34. GUZMÁN, M. 2008. Manual de protocolos para la detección de algunos virus que infectan la papa. Cevipapa; Ministerio de Agricultura y Desarrollo Social; IBUN-Universidad Nacional de Colombia; Unibiblos, Bogotá.
35. GUZMÁN, M., CARO, M. Y GARCÍA, Y. 2002. Técnica de Inmuno impresión en membranas de nitrocelulosa. Una detección rápida para estimar la incidencia de los virus PVX, PVY, PVS y PLRV que infectan a la papa (*Solanum spp.*). *Revista Colombiana de Biotecnología* 4(2): 45-51.
36. HANE, D. C., AND HAMM, P. B. 1999. Effects of seedborne potato virus Y infection in two potato cultivars expressing mild disease symptoms. *Plant Dis.* 83:43-45.
37. HERNÁNDEZ, P. R., IGARZA. C. Y., LILIA. P. E., FONTANCLLA. J., PICHARDO, M. T., SARRIA, H. Z., NOA, C. J. C.GARCIA. L., RODRIGUEZ, M. Y ALFONSO, E. 1996. Nuevo método para el saneamiento a bacterias y virus en caña de azúcar (*Saccharum afficinatum* L). *Memorias del XXIII Congreso Nacional de Fitopatología.* Guadalajara. Jalisco, México.

38. HERNÁNDEZ, R. Y., RUIZ, M. 1992. Técnica de diagnóstico para el complejo viral del ajo (*Allium sativum* L) mediante plantas indicadoras y microscopía óptica. Reporte especial. 4 p.
39. HERNÁNDEZ, R.J., FONTANELLA, J. C., NOA, T., PICHARDO, Y. IGARZA, H., CARDENAS AND MANSO, R. 1999. Electrotherapy: A novel method for eliminating viruses from garlic (*Allium sativum* L.) Hort. Argentina, 16: 68-71.
40. HIDAYET, B., ERKOL, D. 2004. Obtaining PVX, PVY and PLRV-free micro tuber from Granola, Pasinler 92 and Caspar potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars. *Pak J Biol Sci* 7: 1135–1139.
41. HILLE RIS LAMBERS, D. 1980. Pulgones: sus ciclos biológicos y su papel como vectores de virus. In: De Bokx, J.A. (ed.) *Virosis de la papa y de la semilla de papa*. Hemisferio Sur, Buenos Aires.
42. HOLIDAY, D. AND RESNICK, R. 1988. *Fundamentals of Physis*. 3rd. ed. John Willey and Sons editors. Canada. 977 p.
43. HUAMAN, Z. AND SPOONER, D. 2002. Reclassification of landrace populations of cultivates potatoes (*Solanum* sect. *Petota*). *American Journal of Botany* Vol. 89(6). Pag. 947 – 965.
44. ALMAARRI, K. R., MASSA, F., ALBISKI, (2011) Evaluation of some therapies and meristem culture to eliminate Potato Y potyvirus from infected potato plants. Syrian National Commission of Biotechnology, Damascus, Syria.  
*Plant Biotechnology* 29, 237–243 (2012).
45. KITAJIMA, E. W., DE AVILA, A. C. AND RESENDE, E. O. 1997. Taxonomía de virus de plantas fitopatol. *Brasileira*, 22: 5-24.
46. KLEIN, R. E. AND LIVINGSTON, C. H. 1983. Eradication of potato viruses X and S from potato Shoot tip cultures with ribavirin. *Phytopathology*, 73: 1049-1050.
47. KOGOVSEK, P., GOW, L., POMPE-NOVAK, M., GRUDEN, K., FOSTER, G. D., BOONHAM, N. & RAVNIKAR, M. (2008). Single-step RT real-time PCR for sensitive detection and discrimination of Potato virus Y isolates. *J Virol Methods* 149, 1–11.

48. LADISLAO, P. 2008. Diagnóstico de la incidencia de virus en papas nativas en comunidades campesinas de la provincia de Canchis. Reporte de soluciones Prácticas, INIA – Cuzco, Perú. En línea visto 22/04/2015. [www.solucionespracticas.org.pe/Descargar/406/3798](http://www.solucionespracticas.org.pe/Descargar/406/3798)
49. LIZARRAGA, R., PANTA, R. JAYASINGHE AND J. DODDS, 1991. Tissue Culture for Elimination of Pathogens. International Potato Center, Lima, pp: 21.
50. LOZOYA, S. H., ABELLO, F. AND GARCÍA, G. 1995. Electrotherapy and shoot tip eliminate potato virus X (PXV) in potato. Reporte de investigación. Chapingo, México. 15 pp.
51. LOZOYA, S. H. AND DAWSON, W. O. 1982. Effect of alternating temperature regimens on reduction or elimination of viruses in plant tissue. *Phytopathology*. 72: 1059-1064.
52. LUNG, M. C. Y., PIRONE, T. P. 1973 Studies on the reason for differential transmission of cauliflower mosaic virus isolates by aphids. *Phytopathology* 63: 910 – 914.
53. MARIE – JEANNE TORDO V, CHACHULSKA AM, FAKHFAKH H, LE ROMANCER M, ROBAGLIA C, ASTIER – MANIFACIER, S. 1995. Sequence polymorphism in the 5'NTR and in the P1 coding region of potato virus Y genomic RNA. *J, Gen Viral*. 76: 939 – 949.
54. MELLOR, F. C. AND STACE – SMITH, R. 1970. Virus strain differences in eradication of potato virus X and S. *Phytopatology*, 60: 1587-1590.
55. MILNE, R. G. AND LUISONI, E. 1976. Rapid immune electron microscopy of virus preparation. In: *Methods in Virology*. K. Maramorosh and M Kaproski editors. Academic New York. pp. 265-281.
56. NASCIMENTO, L. C., PIO-RIBERIO, L., WILLADINO AND ANDREDE, G.P. 2003. Stock indexing and potato virus Y elimination from potato plants cultivated in vitro. *Scientia Agricola*. 60: 525-530.
57. NASIR, M., ZAIDI, H.S.S., BATOOL, A., HUSSAIN, M., IQBAL, B., SAJJAD, M., ABBAS, W. AND JAVED, M. M. 2012. ELISA-based

- detection of major potato viruses in tissue culture produced potato germplasm. *International Journal of Agriculture Sciences*. 2: 75-80.
58. NOME, S. F. 1987. Pruebas de detección de virus, vi raides y organismos filopatógcnos sistémicos aplicados al cultivo de tejidos. En: *Cultivo de Tejidos en la Agricultura*. INTA. Córdoba. Argentina, p. 663-695.
  59. OGAWA, T., TOMITAKA, Y., NAKAGAWA, A., OHSHIMA, K. 2008. Genetic structure of a population of *Potato virus Y* inducing potato tuber necrotic ringspot disease in Japan; comparison with North American and European populations. *Virus Research* **131**: 199-212.
  60. PIRONE, T. P. AND THORNBURY, D. W. 1988. Quantity of virus required for aphid transmission of a potyvirus. *Phytopathology* **73**: 875.
  61. PIRONE, T. AND HARRIS, 1977. Nonpersistent transmission of plant viruses by aphids. *Annual Review Phytopathol* **15**: 55-73.
  62. PUMISACHO, M., SHERWOOD, S. 2002. El cultivo de la papa en Ecuador. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Centro Internacional de la Papa (CIP). p 229.
  63. QUACQUARELLI, A. V., GALLITELLI, D., SAVINO. V. AND PIAZOLLA, P. 1980. The use of electric current (R.A.C.E.) for obtaining mosaic free almonds. *Acta Phytopatologica Académica Scientianim hungaricae*. Vol 15 (2): 251-255.
  64. QUAK, F. 1977. Meristem culture and virus plants. In: *Plant cell, tissue and organ culture*. J. Reinhart and Y. P. S. Bajaj Editors. Springer Verlang, New York, pp 598 - 615.
  65. RACCAH, B. 1986. Nonpersistent viruses: epidemiology and control. *Adv. Virus Res.* **31**: 387-430.
  66. RAMAN, K. V. 1985. Transmisión de virus de papa por áfidos. *Boletín de Información Técnica* 2. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú. 22p.

67. RAMÍREZ, E. 2004. Renovación y conservación in vitro germoplasma de papa (*Solanum tuberosum*). En línea. Fecha de consulta: 21 de Abril del 2014. Disponible en:  
[http://www.icta.gob.gt/fpdt/infop/bio\\_tec/papa2004.pdf](http://www.icta.gob.gt/fpdt/infop/bio_tec/papa2004.pdf).
68. REMIZOV, A. 1987. Física Médica y Biológica. Ed. Mir Moscú. U.R.S.S. 692 p.
69. SABRY, Y. M., MAHMOUD, MAHER, H. HOSSSENY AND MAMDOUH H. ABDEL-GHAFFAR, 2009. Evaluation of some therapies to eliminate Potato Y Potyvirus from potato plants, International Journal of Virology, 5, 64-76.
70. SALAZAR, L. F. 1982. Manual. Enfermedades virosas de la papa. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú. 111 p.
71. SALVAT MEXICANA DE EDICIONES. S. A. DE C. V. 1983. Diccionario Terminológico de Ciencias Médicas. 11\* ed. Ed Salvat. México. 1073 p.
72. SCHEIDEGGER, U.C. ET AL. 1991. El efecto de diferentes virus sobre el rendimiento potencial de la papa en la Sierra Central del Perú. Rev. Lat. de la Papa. Voi. 4(1).
73. SCHUBERT, J., FOMITCHEVA V., SZTANGRET-WISNIEWSKAB J., 2007. Differentiation of *Potato virus Y* strains using improved sets of diagnostic PCR-primers. *Journal of Virological Methods* **140**: 66-74.
74. SINGH, R. P., VALKONEN J.P.T., GRAY S.M., BOONHAM N., JONES R.A.C., KERLAN C., SCHUBERT J., 2008. Discussion paper: The naming of Potato virus Y strains infecting potato. *Archives of Virology* **153**: 1-13.
75. SMITH, K. M. 1972. A Textbook of Plant Virus Disease. Third edition. Ed: Academic Press. New York and London. 684 p.
76. SOTO, R. R. 1988. Introducción a la Biofísica. Tomo 3. Ed. Oriente. Santiago de Cuba. 441 p.
77. SPAAR, D. AND H. KLEINHEMPEL, 1986. Borda S virusimi baljeznjami rostenij. Agropromiztad, Moskua, pp. 479.

78. STURZ, A. V., STEWART, J. G., MC RAE, J. F., DIMOND, X. AND SINGH, R. P. 2000 Assessment of the importance of seed cutting, in – season cultivation and the passage of row equipment in the spread of PVY in potatoes con J. Plant pathol, 22: 166-173.
79. TATLAR, T. A. AND BLANCHARD, R. O. 1976. Electrophysiological research in plant pathology. Ann. Rev. of phytopathol. 14: 309-325.
80. TERRANOVA, 1995. Producción agrícola. Bogotá, 1995. Terranova editores, Ltda. Santa Fe de 341 - 346 p
81. URTAS, M. C, Y ALEJANDRE, A. T. 1992. Los virus y su impacto en la producción agrícola. En: Manejo Fitosanitario de las Hortalizas en México. Ed. Centro de Entomología y Acarología. Chapingo, México. 333-350 p.
82. VALVERDE, M. E. Y PAREDES-L. O. 1996. El uso de los marcadores moleculares en el estudio de la biodiversidad. El caso de los hongos. Ciencia y desarrollo. 3:29-37.
83. VAN DIJK, P., VERBEEK, M. AND BOS, L. 1991. Mite-borne virus isolates from cultivated *Allium* species, and their classification into two new rymoviruses in the family *Potyviridae*. Neth. J. Pl. Path. 97: 381-399.
84. VIDALES, F. J. A. Y DELGADILLO, S. F. 1987. Detección de virus de semillas de melón y pepino en el Valle de Apatzingán, Michoacán. En: Enfermedades Virales del Melón (*Cucumis melo*) y su Control en México. INIFAP-SARH. 18-21 pp.
85. VILLACRÉS, E., MONTEROS, C., REINOSO, I., QUILCA, N. 2007. El aporte de la papa nativa a la nutrición, la alimentación, salud y seguridad alimentaria de la población ecuatoriana. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP).
86. WEISS, G. 1922. Manual de Física Biológica. Trad. Jaime Mur y Sancho. 5a ed. Ed: Editora Nacional. México, D. F. 640 pp.
87. WHITWARTH, J. L., NOLTE, P. C. MCINTOSH AND DAVIDSON, R. 2006. Effect of potato viruses Y on yield of three potato cultivars grown under different nitrogens levels. Plant Dis., 90: 73-76.

88. YI, J. Y., SEO, H. W., CHOI, Y. M. AND PART, Y. E. 2003. Ribarin, electric current and Shoot – tip culture to eliminate several potato viruses. *J. Plant Biotechnology*, 5: 101-105.
89. ZAAG, D. E. 1987. Yield reduction in relation to virus infection. In: *Viruses of Potato and Seed Potato Production*. Ed. Van Der Want. PP 146-150.

# **ANEXO**



MINISTERIO DE AGRICULTURA

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL

Av. La Molina N° 1915, Lima 12 - Perú  
Teléfono directo: 313-3303  
Central telefónica 313-3300 Anexos: 1400 - 1401  
Pag. Web: www.senasa.gob.pe

Ministerio de Agricultura

**SENASA**  
Servicio Nacional de Sanidad Agraria  
**PERU**

Pag. 1 de 1

**INFORME DE ENSAYO N° 106575 - 2014 - AG-SENASA-OCDP-UCDSV**

1. Información del solicitante: N° de Solicitud: 106836 - 2014  
 Nombre: ASOCIACION DE PRODUCTORES AGROPECUARIOS LA ANDINA DE MARCARA  
 Dirección: HUAMANGA - Ayacucho / Huamanga / Ayacucho  
 N° Expediente: Origen Material Vegetal: NO INDICA

2. Información de la Actividad  
 Servicio Externo

3. Fecha de Recepción de la muestra: Procedencia de la muestra: País:  
 02/12/2014 07:30 Ayacucho / Huamanga / Ayacucho PERU

4. Cultivo:  
 Nombre Científico: *Solanum tuberosum*  
 Nombre Común: Papa Cultivar: NATIVA - STE 1

5. Resultado por Método de Ensayo:

**VIROLOGIA** Código Muestra: 201410683501000 Tipo: PLANTULA Cantidad: 1 Unds

MET-UCDSV/Vir-002 DAS-ELISA PARA DETECCIÓN DE VIRUS FITOPATÓGENOS EN MATERIAL VEGETAL

Fecha de Recepción: 02/12/2014

Fecha de Término: 04/12/2014

N°	Resultado	Información
1	Negativo a la presencia de	Potato virus Y
2	Negativo a la presencia de	Potato virus X

N° de Informe



2014106835

N° de Solicitud



2014106836

6. Muestreo: No Aplica

7. Información adicional:

Lugar y Fecha:

La Molina, 04 de Diciembre del 2014



MINISTERIO DE AGRICULTURA Y RIEGO  
SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL

*[Firma]*  
Ing. Jorge Sanabria Nishimura  
Director del Centro de Diagnóstico  
de Sanidad Vegetal

Nombre y Firma del Director (Sello oficial)

Consideraciones:

Los tiempos de duración del servicio están expresados en días hábiles y son contabilizados a partir de la fecha de recepción de la muestra en el Laboratorio hasta la fecha de emisión del resultado

Los tiempos de duración del servicio pueden aumentar de acuerdo a la cantidad de muestras que solicite procesar el usuario, en cuyo caso se concordará el plazo al momento de efectuarse el contrato

REG-UCDSV-003 del PRD-UCDSV-003, vigente.

NOTA: El Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal sólo se responsabiliza por los resultados emitidos de la muestra indicada en el punto 4 del presente Informe

Fecha y Hora: 12/12/2014 10:42



MINISTERIO DE AGRICULTURA

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL

Av. La Molina N° 1915, Lima 12 - Perú  
Teléfono directo: 313- 3303  
Central telefónica 313- 3300 Anexos: 1400 - 1401  
Pag. Web: www.senasa.gob.pe



Pag. 1 de 1

**INFORME DE ENSAYO N° 106576 - 2014 - AG-SENASA-OCDP-UCDSV**

1. Información del solicitante: N° de Solicitud: 106838 - 2014  
 Nombre: ASOCIACION DE PRODUCTORES AGROPECUARIOS LA ANDINA DE MARCARA  
 Dirección: HUAMANGA - Ayacucho / Huamanga / Ayacucho  
 N° Expediente: Origen Material Vegetal: NO INDICA

2. Información de la Actividad  
 Servicio Externo

3. Fecha de Recepción de la muestra: Procedencia de la muestra: País:  
 02/12/2014 07:31 Ayacucho / Huamanga / Ayacucho PERU

4. Cultivo:  
 Nombre Científico: *Solanum tuberosum*  
 Nombre Común: Papa Cultivar: NATIVA - STE 2

5. Resultado por Método de Ensayo:

**VIROLOGIA** Código Muestra: 201410683801000 Tipo: PLANTULA Cantidad: 1 Unds.

MET-UCDSV/Vir-002 DAS-ELISA PARA DETECCIÓN DE VIRUS FITOPATÓGENOS EN MATERIAL VEGETAL

Fecha de Recepción : 02/12/2014 Fecha de Término: 04/12/2014


N°	Resultado	Información
1	Negativo a la presencia de	Potato virus Y
2	Negativo a la presencia de	Potato virus X



6. Muestreo: No Aplica

7. Información adicional:

Lugar y Fecha:  
 La Molina, 04 de Diciembre del 2014

  
 Nombre y Firma del Director (Sello oficial)

**Consideraciones:**

Los tiempos de duración del servicio están expresados en días hábiles y son contabilizados a partir de la fecha de recepción de la muestra en el Laboratorio hasta la fecha de emisión del resultado.  
Los tiempos de duración del servicio pueden aumentar de acuerdo a la cantidad de muestras que solicite procesar el usuario, en cuyo caso se concertará el plazo al momento de efectuarse el contrato.

REG-UCDSV-003 del PRO-UCDSV-003, vigente.

NOTA: El Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal sólo se responsabiliza por los resultados emitidos de la muestra indicada en el punto 4 del presente Informe

Fecha y Hora: 12/12/2014 10:42



MINISTERIO DE AGRICULTURA

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL

Av. La Molina Nº 1915, Lima 12 - Perú  
Teléfono directo: 313- 3303  
Central telefónica 313- 3300 Anexos: 1400 - 1401  
Pag. Web: www.senasa.gob.pe



Pag. 1 de 1

**INFORME DE ENSAYO Nº 106577 - 2014 - AG-SENASA-OCDP-UCDSV**

1. Información del solicitante: Nº de Solicitud: 106839 - 2014  
 Nombre: ASOCIACION DE PRODUCTORES AGROPECUARIOS LA ANDINA DE MARCARA  
 Dirección: HUAMANGA - Ayacucho / Huamanga / Ayacucho  
 N° Expediente: Origen Material Vegetal: NO INDICA

2. Información de la Actividad  
 Servicio Externo

3. Fecha de Recepción de la muestra: Procedencia de la muestra: País:  
 02/12/2014 07:32 Ayacucho / Huamanga / Ayacucho PERU

4. Cultivo:  
 Nombre Científico: *Solanum tuberosum*  
 Nombre Común: Papa Cultivar: NATIVO - STT1

5. Resultado por Método de Ensayo:

**VIROLOGIA**      Código Muestra: 201410683901000    Tipo: PLANTULA      Cantidad: 1 Unds

**MET-UCDSV/Vir-002**    DAS-ELISA PARA DETECCIÓN DE VIRUS FITOPATÓGENOS EN MATERIAL VEGETAL

Fecha de Recepción : 02/12/2014

Fecha de Término: 04/12/2014

Nº	Resultado	Información
1	Positivo a la presencia de	Potato virus Y
2	Negativo a la presencia de	Potato virus X

Nº de Informe



\* 2 0 1 4 1 0 6 5 7 7

Nº de Solicitud




\* 2 0 1 4 1 0 6 8 3 9

6. Muestreo: No Aplica

7. Información adicional:

Lugar y Fecha:  
 La Molina, 04 de Diciembre del 2014


  
 Nombre y Firma del Director (Sello oficial)

**Consideraciones:**

Los tiempos de duración del servicio están expresados en días hábiles y son contabilizados a partir de la fecha de recepción de la muestra en el Laboratorio hasta la fecha de emisión del resultado.

Los tiempos de duración del servicio pueden aumentar de acuerdo a la cantidad de muestras que solicite procesar el usuario, en cuyo caso se concordará el plazo al momento de efectuarse el contrato.

REG-UCDSV-003 del PRO-UCDSV-003, vigente.

NOTA: El Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal sólo se responsabiliza por los resultados emitidos de la muestra indicada en el punto 4 del presente Informe.

Fecha y Hora: 17/12/2014 10:44



MINISTERIO DE AGRICULTURA

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL

Av. La Molina N° 1915, Lima 12 - Perú  
Teléfono directo: 313- 3303  
Central telefónica 313- 3300 Anexos: 1400 - 1401  
Pag. Web: www.senasa.gob.pe



Pag. 1 de 1

**INFORME DE ENSAYO N° 106578 - 2014 - AG-SENASA-OCDP-UCDSV**

1. Información del solicitante: N° de Solicitud: 106840 - 2014  
 Nombre: ASOCIACION DE PRODUCTORES AGROPECUARIOS LA ANDINA DE MARCARA  
 Dirección: HUAMANGA - Ayacucho / Huamanga / Ayacucho  
 N° Expediente: Origen Material Vegetal: NO INDICA

2. Información de la Actividad  
 Servicio Externo

3. Fecha de Recepción de la muestra: Procedencia de la muestra: País:  
 02/12/2014 07:40 Ayacucho / Huamanga / Ayacucho PERU

4. Cultivo:  
 Nombre Científico: *Solanum tuberosum*  
 Nombre Común: Papa Cultivar: NATIVA - STT2

5. Resultado por Método de Ensayo:

VIROLOGIA Código Muestra: 201410684001000 Tipo: PLANTULA Cantidad: 1 Unds

MET-UCDSV/Vir-002 DAS-ELISA PARA DETECCIÓN DE VIRUS FITOPATÓGENOS EN MATERIAL VEGETAL

Fecha de Recepción: 02/12/2014 Fecha de Término: 04/12/2014

N°	Resultado	Información
1	Positivo a la presencia de	Potato virus Y
2	Negativo a la presencia de	Potato virus X

N° de Informe




N° de Solicitud



6. Muestreo: No Aplica

7. Información adicional:

Lugar y Fecha:  
 La Molina, 04 de Diciembre del 2014

  
 Nombre y Firma del Director (Sello oficial)

Consideraciones:

Los tiempos de duración del servicio están expresados en días hábiles y son contabilizados a partir de la fecha de recepción de la muestra en el Laboratorio hasta la fecha de emisión del resultado.

Los tiempos de duración del servicio pueden aumentar de acuerdo a la cantidad de muestras que solicite presentar al usuario, en cuyo caso se concordará el precio al momento de efectuarse el cobro.

REG-UCDSV-003 del PRO-UCDSV-003, vigente.

NOTA: El Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal sólo se responsabiliza por los resultados emitidos de la muestra indicada en el punto 4 del presente Informe.

Fecha y Hora: 17/12/2014 10:44



MINISTERIO DE AGRICULTURA

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL

Av. La Molina N° 1915, Lima 12 - Perú  
Teléfono directo: 313- 3303

Central telefónica 313- 3300 Anexos: 1400 - 1401

Pag. Web: www.senasa.gob.pe

Ministerio de Agricultura

**SENASA**  
Servicio Nacional de Sanidad Agraria  
**PERU**

Pag. 1 de 1

**INFORME DE ENSAYO N° 106579 - 2014 - AG-SENASA-OCDP-UCDSV**

1. Información del solicitante: N° de Solicitud: 106841 - 2014  
 Nombre: ASOCIACION DE PRODUCTORES AGROPECUARIOS LA ANDINA DE MARCARA  
 Dirección: HUAMANGA - Ayacucho / Huamanga / Ayacucho  
 N° Expediente: Origen Material Vegetal: NO INDICA

2. Información de la Actividad  
 Servicio Externo

3. Fecha de Recepción de la muestra: Procedencia de la muestra: País:  
 02/12/2014 07:41 Ayacucho / Huamanga / Ayacucho PERU

4. Cultivo:  
 Nombre Científico: *Solanum tuberosum*  
 Nombre Común: Papa Cultivar: NATIVA - LE 1

5. Resultado por Método de Ensayo:

**VIROLOGIA** Código Muestra: 201410684101000 Tipo: PLANTULA Cantidad: 1 Unds

**MET-UCDSV/Vir-002** DAS-ELISA PARA DETECCIÓN DE VIRUS FITOPATÓGENOS EN MATERIAL VEGETAL

Fecha de Recepción : 02/12/2014 Fecha de Término: 04/12/2014


Nº	Resultado	Información
1	Negativo a la presencia de	Potato virus Y
2	Negativo a la presencia de	Potato virus X



6. Muestreo: No Aplica

7. Información adicional:

Lugar y Fecha:  
 La Molina, 04 de Diciembre del 2014


  
 Nombre y Firma del Director (Sello oficial)

**Consideraciones:**

Los tiempos de duración del servicio están expresados en días hábiles y son contabilizados a partir de la fecha de recepción de la muestra en el Laboratorio hasta la fecha de emisión del resultado.

Los tiempos de duración del servicio pueden aumentar de acuerdo a la cantidad de muestras que solicita procesar el usuario, en cuyo caso se concordará el plazo al momento de efectuarse el contrato.

REG-UCDSV-003 del PRO-UCDSV-003, vigente.

NOTA: El Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal sólo se responsabiliza por los resultados emitidos de la muestra indicada en el punto 4 del presente informe.

Fecha y Hora: 17/12/2014 10:45



MINISTERIO DE AGRICULTURA

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL

Av. La Molina N° 1915, Lima 12 - Perú  
Teléfono directo: 313- 3303  
Central telefónica 313- 3300 Anexos: 1400 - 1401  
Pag. Web: www.senasa.gob.pe

Ministerio de Agricultura

**SENASA**  
Servicio Nacional de Sanidad Agraria  
**PERU**

Pag. 1 de 1

**INFORME DE ENSAYO N° 106580 - 2014 - AG-SENASA-OCDP-UCDSV**

1. Información del solicitante: N° de Solicitud: 106842 - 2014  
 Nombre: ASOCIACION DE PRODUCTORES AGROPECUARIOS LA ANDINA DE MARCARA  
 Dirección: HUAMANGA - Ayacucho / Huamanga / Ayacucho  
 N° Expediente: Origen Material Vegetal: NO INDICA

2. Información de la Actividad  
 Servicio Externo

3. Fecha de Recepción de la muestra: Procedencia de la muestra: País:  
 02/12/2014 07:44 Ayacucho / Huamanga / Ayacucho PERU

4. Cultivo:  
 Nombre Científico: *Solanum tuberosum*  
 Nombre Común: Papa Cultivar: NATIVA - LE 2

5. Resultado por Método de Ensayo:

**VIROLOGÍA** Código Muestra: 201410684201000 Tipo: PLANTULA Cantidad: 1 Unds

MET-UCDSV/ir-002 DAS-ELISA PARA DETECCIÓN DE VIRUS FITOPATÓGENOS EN MATERIAL VEGETAL

Fecha de Recepción: 02/12/2014 Fecha de Término: 04/12/2014

N°	Resultado	Información
1	Negativo a la presencia de	Potato virus Y
2	Negativo a la presencia de	Potato virus X

N° de Informe



\* 2 0 1 4 1 0 6 5 8 0

N° de Solicitud




\* 2 0 1 4 1 0 6 8 4 2

6. Muestreo: No Aplica

7. Información adicional:

Lugar y Fecha:  
 La Molina, 04 de Diciembre del 2014


 MINISTERIO DE AGRICULTURA Y RIEGOS  
 SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
 CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL  
 Ing. Jorge Yanaka Nakamacho  
 Director del Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal

Nombre y Firma del Director (Sello oficial)

Consideraciones:

Los tiempos de duración del servicio están expresados en días hábiles y son contabilizados a partir de la fecha de recepción de la muestra en el Laboratorio hasta la fecha de emisión del resultado.  
 Los tiempos de duración del servicio pueden aumentar de acuerdo a la cantidad de muestras que solicite procesar el usuario, en cuyo caso se concordará el plazo al momento de efectuarse el contrato.

REG-UCDSV-003 del PRO-UCDSV-003, vigente.

NOTA: El Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal sólo se responsabiliza por los resultados emitidos de la muestra indicada en el punto 4 del presente informe.  
 Fecha y Hora: 17/12/2014 10:47



MINISTERIO DE AGRICULTURA

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL

Av. La Molina N° 1915, Lima 12 - Perú

Teléfono directo: 313- 3303

Central telefónica 313- 3300 Anexos: 1400 - 1401

Pag. Web: www.senasa.gob.pe

Ministerio de Agricultura

**SENASA**  
Servicio Nacional de Sanidad Agraria  
**PERU**

Pag. 1 de 1

**INFORME DE ENSAYO N° 106581 - 2014 - AG-SENASA-OCDP-UCDSV**

1. Información del solicitante: N° de Solicitud: 106843 - 2014  
 Nombre: ASOCIACION DE PRODUCTORES AGROPECUARIOS LA ANDINA DE MARCARA  
 Dirección: HUAMANGA - Ayacucho / Huamanga / Ayacucho  
 N° Expediente: Origen Material Vegetal: NO INDICA

2. Información de la Actividad  
 Servicio Externo

3. Fecha de Recepción de la muestra: Procedencia de la muestra: País:  
 02/12/2014 07:42 Ayacucho / Huamanga / Ayacucho PERU

4. Cultivo:  
 Nombre Científico: *Solanum tuberosum*  
 Nombre Común: Papa Cultivar: NATIVA - LT 3


5. Resultado por Método de Ensayo:


**VIROLOGIA** Código Muestra: 201410584301000 Tipo: PLANTULA Cantidad: 1 Unds

MET-UCDSV/Vir-002 DAS-ELISA PARA DETECCIÓN DE VIRUS FITOPATÓGENOS EN MATERIAL VEGETAL

Fecha de Recepción: 02/12/2014 Fecha de Término: 04/12/2014

N°	Resultado	Información
1	Negativo a la presencia de	Potato virus Y
2	Negativo a la presencia de	Potato virus X


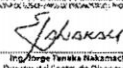
N° de Informe:   
 \* 2 0 1 4 1 0 6 5 8 1

N° de Solicitud:   
 \* 2 0 1 4 1 0 6 8 4 3

6. Muestreo: No Aplica

7. Información adicional:

Lugar y Fecha:  
 La Molina, 04 de Diciembre del 2014

   
 Nombre y Firma del Director (Sello oficial)

Consideraciones:  
 Los tiempos de duración del servicio están expresados en días hábiles y son contabilizados a partir de la fecha de recepción de la muestra en el Laboratorio hasta la fecha de emisión del resultado.  
 Los tiempos de duración del servicio pueden aumentar de acuerdo a la cantidad de muestras que solicite procesar el usuario, en cuyo caso se coordinará el plazo al momento de efectuarse el contrato.

REG-UCDSV-003 del PRO-UCDSV-003, vigente.

NOTA: El Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal sólo se responsabiliza por los resultados emitidos de la muestra indicada en el punto 4 del presente Informe.  
 Fecha y Hora: 17/12/2014 10:46



MINISTERIO DE AGRICULTURA

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL

Av. La Molina N° 1915, Lima 12 - Perú  
Teléfono directo: 313- 3303  
Central telefónica 313- 3300 Anexos: 1400 - 1401  
Pag. Web: www.senasa.gob.pe



Pag. 1 de 1

INFORME DE ENSAYO N° 106582 - 2014 - AG-SENASA-OCDP-UCDSV

1. Información del solicitante: N° de Solicitud: 106844 - 2014  
 Nombre: ASOCIACION DE PRODUCTORES AGROPECUARIOS LA ANDINA DE MARCARA  
 Dirección: HUAMANGA - Ayacucho / Huamanga / Ayacucho  
 N° Expediente: Origen Material Vegetal: NO INDICA

2. Información de la Actividad  
 Servicio Externo

3. Fecha de Recepción de la muestra: Procedencia de la muestra: País:  
 02/12/2014 07:45 Ayacucho / Huamanga / Ayacucho PERU

4. Cultivo:  
 Nombre Científico: *Solanum tuberosum*  
 Nombre Común: Papa Cultivar: NATIVO - LT + E5

5. Resultado por Método de Ensayo:

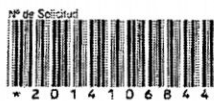
VIROLOGÍA Código Muestra: 201410684401000 Tipo: PLANTULA Cantidad: 1 Unde

MET-UCDSV/Vir-002 DAS-ELISA PARA DETECCIÓN DE VIRÚS FITOPATÓGENOS EN MATERIAL VEGETAL

Fecha de Recepción : 02/12/2014

Fecha de Término: 04/12/2014

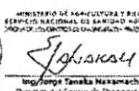
N°	Resultado	Información
1	Negativo a la presencia de	Potato virus Y
2	Negativo a la presencia de	Potato virus X



6. Muestreo: No Aplica

7. Información adicional:

Lugar y Fecha:  
 La Molina, 04 de Diciembre del 2014

  
 Nombre y Firma del Director (Sello oficial)

Consideraciones:

Los tiempos de duración del servicio están expresados en días hábiles y son contabilizados a partir de la fecha de recepción de la muestra en el Laboratorio hasta la fecha de emisión del resultado.

Los tiempos de duración del servicio pueden aumentar de acuerdo a la cantidad de muestras que solicita procesar el usuario, en cuyo caso se concordará el plazo al momento de efectuarse el contrato.

REG-UCDSV-003 del PRO-UCDSV-003, vigente.

NOTA: El Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal sólo se responsabiliza por los resultados emitidos de la muestra indicada en el punto 4 del presente Informe.

Fecha y Hora: 17/12/2014 10:45



MINISTERIO DE AGRICULTURA

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL

Av. La Molina N° 1815, Lima 12 - Perú

Teléfono directo: 313- 3303

Central telefónica 313- 3300 Anexos: 1400 - 1401

Pag. Web: www.senasa.gob.pe

Ministerio de Agricultura

**SENASA**  
Servicio Nacional de Sanidad Agraria  
**PERU**

Pag. 1 de 1

**INFORME DE ENSAYO N° 106583 - 2014 - AG-SENASA-OCDP-UCDSV**

1. Información del solicitante: N° de Solicitud: 106845 - 2014  
 Nombre: ASOCIACION DE PRODUCTORES AGROPECUARIOS LA ANDINA DE MARCARA  
 Dirección: HUAMANGA - Ayacucho / Huamanga / Ayacucho  
 N° Expediente: Origen Material Vegetal: NO INDICA

2. Información de la Actividad  
 Servicio Externo

3. Fecha de Recepción de la muestra: Procedencia de la muestra: País:  
 02/12/2014 07:46 Ayacucho / Huamanga / Ayacucho PERU

4. Cultivo:  
 Nombre Científico: *Solanum tuberosum*  
 Nombre Común: Papa Cultivar: NATIVA - LT 2

5. Resultado por Método de Ensayo:

**VIROLOGIA** Código Muestra: 201410684501000 Tipo: PLANTULA Cantidad: 1 Unds

**MET-UCDSV/vir-002** DAS-ELISA PARA DETECCIÓN DE VIRUS FITOPATÓGENOS EN MATERIAL VEGETAL

Fecha de Recepción: 02/12/2014

Fecha de Término: 04/12/2014

N°	Resultado	Información
1	Negativo a la presencia de	Potato virus Y
2	Negativo a la presencia de	Potato virus X

N° de Informe



\* 2 0 1 4 1 0 6 5 8 3

N° de Solicitud



\* 2 0 1 4 1 0 6 8 4 5

6. Muestreo: No Aplica

7. Información adicional:

Lugar y Fecha:

La Molina, 04 de Diciembre del 2014



MINISTERIO DE AGRICULTURA Y RIEGO  
SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
DIRECCIÓN DE DIAGNÓSTICO FITOPATOLÓGICO VEGETAL

*[Firma]*  
Ing. Jorge Iñesta Askenatche  
Director del Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal

Nombre y Firma del Director (Sello oficial)

Consideraciones:

Los tiempos de duración del servicio están expresados en días hábiles y son contabilizados a partir de la fecha de recepción de la muestra en el Laboratorio hasta la fecha de emisión del resultado.

Los tiempos de duración del servicio pueden aumentar de acuerdo a la cantidad de muestras que solicite procesar el usuario, en cuyo caso se concordará el plazo el momento de efectuarse el contrato.

REG-UCDSV-003 del PRO-UCDSV-003, vigente.

NOTA: El Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal sólo se responsabiliza por los resultados emitidos de la muestra indicada en el punto 4 del presente Informe.

Fecha y Hora: 17/12/2014 10:49



MINISTERIO DE AGRICULTURA

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL

Av. La Molina N° 1915, Lima 12 - Perú  
Teléfono directo: 313- 3303  
Central telefónica 313- 3300 Anexos: 1400 - 1401  
Pag. Web: www.senasa.gob.pe



Pag. 1 de 1

**INFORME DE ENSAYO N° 106584 - 2014 - AG-SENASA-OCDP-UCDSV**

1. Información del solicitante: N° de Solicitud: 106846 - 2014  
 Nombre: ASOCIACION DE PRODUCTORES AGROPECUARIOS LA ANDINA DE MARCARA  
 Dirección: HUAMANGA - Ayacucho / Huamanga / Ayacucho  
 N° Expediente: Origen Material Vegetal: NO INDICA

2. Información de la Actividad  
 Servicio Externo

3. Fecha de Recepción de la muestra: Procedencia de la muestra: País:  
 02/12/2014 07:46 Ayacucho / Huamanga / Ayacucho PERU

4. Cultivo:  
 Nombre Científico: *Solanum tuberosum*  
 Nombre Común: Papa Cultivar: NATIVA - LT + E7

5. Resultado por Método de Ensayo:

**VIROLOGIA** Código Muestra: 201410684601000 Tipo: PLANTULA Cantidad: 1 Unds

MET-UCDSV/vir-002 DAS-ELISA PARA DETECCIÓN DE VIRUS FITOPATÓGENOS EN MATERIAL VEGETAL

Fecha de Recepción : 02/12/2014

Fecha de Término: 04/12/2014


N°	Resultado	Información
1	Negativo a la presencia de	Potato virus Y
2	Negativo a la presencia de	Potato virus X



6. Muestreo: No Aplica

7. Información adicional:

Lugar y Fecha:  
 La Molina, 04 de Diciembre del 2014



MINISTERIO DE AGRICULTURA Y RIEGO  
 SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
 CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL

*Jorge Tanaka Reátegui*  
 Director del Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal

Nombre y Firma del Director (Sello oficial)

Consideraciones:

Los tiempos de duración del servicio están expresados en días hábiles y son contabilizados a partir de la fecha de recepción de la muestra en el Laboratorio hasta la fecha de emisión del resultado.

Los tiempos de duración del servicio pueden aumentar de acuerdo a la cantidad de muestras que solicita procesar el usuario, en cuyo caso se concordará el plazo al momento de efectuarse el contrato.

REG-UCDSV-003 del PRO-UCDSV-003, vigente.

NOTA: El Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal sólo se responsabiliza por los resultados emitidos de la muestra indicada en el punto 4 del presente Informe.

Fecha y Hora: 12/12/2014 10:51



MINISTERIO DE AGRICULTURA

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL

Av. La Molina N° 1915, Lima 12 - Perú  
Teléfono directo: 313- 3303  
Central telefónica 313- 3300 Anexos: 1400 - 1401  
Pag. Web: www.senasa.gob.pe

Ministerio de Agricultura

**SENASA**  
Servicio Nacional de Sanidad Agraria  
**PERU**

Pag. 1 de 1

**INFORME DE ENSAYO N° 106585 - 2014 - AG-SENASA-OCDP-UCDSV**

1. Información del solicitante: N° de Solicitud: 106847 - 2014  
 Nombre: ASOCIACION DE PRODUCTORES AGROPECUARIOS LA ANDINA DE MARCARA  
 Dirección: HUAMANGA - Ayacucho / Huamanga / Ayacucho  
 N° Expediente: Origen Material Vegetal: NO INDICA

2. Información de la Actividad  
 Servicio Externo

3. Fecha de Recepción de la muestra: Procedencia de la muestra: País:  
 02/12/2014 07:47 Ayacucho / Huamanga / Ayacucho PERU

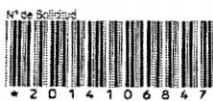
4. Cultivo:  
 Nombre Científico: *Solanum tuberosum*  
 Nombre Común: Papa Cultivar: NATIVA - CCT + E 4

5. Resultado por Método de Ensayo:

**VIROLOGIA** Código Muestra: 2014106847D1000 Tipo: PLANTULA Cantidad: 1 Unds  
**MET-UCDSV/Vir-002** DAS-ELISA PARA DETECCIÓN DE VIRUS FITOPATÓGENOS EN MATERIAL VEGETAL

Fecha de Recepción: 02/12/2014 Fecha de Término: 04/12/2014


N°	Resultado	Información
1	Negativo a la presencia de	Potato virus Y
2	Negativo a la presencia de	Potato virus X



6. Muestreo: No Aplica

7. Información adicional:

Lugar y Fecha: La Molina, 04 de Diciembre del 2014

  
 Nombre y Firma del Director (Sello oficial)

Consideraciones:  
 Los tiempos de duración del servicio están expresados en días hábiles y son contabilizados a partir de la fecha de recepción de la muestra en el Laboratorio hasta la fecha de emisión del resultado

Los tiempos de duración del servicio pueden aumentar de acuerdo a la cantidad de muestras que envíe procesar el usuario, en cuyo caso se concordará el plazo al momento de efectuarse el contrato

REG-UCDSV-003 del PRO-UCDSV-003, vigente.

NOTA: El Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal sólo se responsabiliza por los resultados emitidos de la muestra indicada en el punto 4 del presente informe.

Fecha y Hora: 17/12/2014 10:52



MINISTERIO DE AGRICULTURA

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL

Av. La Molina N° 1815, Lima 12 - Perú  
Teléfono directo: 313- 3303

Central telefónica 313- 3300 Anexos: 1400 - 1401

Pag. Web: www.senasa.gob.pe

Ministerio de Agricultura

**SENASA**  
Servicio Nacional de Sanidad Agraria  
**PERU**

Pag. 1 de 1

**INFORME DE ENSAYO N° 106586 - 2014 - AG-SENASA-OCDP-UCDSV**

1. Información del solicitante:		N° de Solicitud: 106848 - 2014
Nombre: ASOCIACION DE PRODUCTORES AGROPECUARIOS LA ANDINA DE MARCARA		
Dirección: HUAMANGA - Ayacucho / Huamanga / Ayacucho		
N° Expediente:	Origen Material Vegetal: NO INDICA	
2. Información de la Actividad		
Servicio Externo		
3. Fecha de Recepción de la muestra:		Procedencia de la muestra:
02/12/2014 07:48	Ayacucho / Huamanga / Ayacucho	
		País: PERU
4. Cultivo:		
Nombre Científico: <i>Solanum tuberosum</i>		Cultivar: NATIVA - CCT + E5
Nombre Común: Papa		
5. Resultado por Método de Ensayo:		

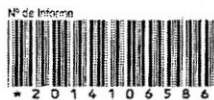
VIROLOGIA	Código Muestra: 201410684801000	Tipo: PLANTULA	Cantidad: 1 Unds
-----------	---------------------------------	----------------	------------------


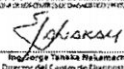
MET-UCDSV/Vir-002 DAS-ELISA PARA DETECCIÓN DE VIRUS FITOPATÓGENOS EN MATERIAL VEGETAL

Fecha de Recepción : 02/12/2014

Fecha de Término: 04/12/2014

N°	Resultado	Información
1	Negativo a la presencia de	Potato virus Y
2	Negativo a la presencia de	Potato virus X



6. Muestreo: No Aplica	
7. Información adicional:	
Lugar y Fecha:	 MINISTERIO DE AGRICULTURA Y RIEGO SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA INSTITUTO NACIONAL DE DIAGNÓSTICO VEGETAL  Ing. Jorge Yanaka Reáteguino Director del Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal
La Molina, 04 de Diciembre del 2014	
Nombre y Firma del Director (Sello oficial)	

Consideraciones:

Los tiempos de duración del servicio están expresados en días hábiles y son contabilizados a partir de la fecha de recepción de la muestra en el Laboratorio hasta la fecha de emisión del resultado

Los tiempos de duración del servicio pueden aumentar de acuerdo a la cantidad de muestras que solicite procesar el usuario, en cuyo caso se concordará el plazo al momento de efectuarse el contrato

REG-UCDSV-003 del PRO-UCDSV-003, vigente.

NOTA: El Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal sólo se responsabiliza por los resultados emitidos de la muestra indicada en el punto 4 del presente Informe

Fecha y Hora: 17/12/2014 10:52



MINISTERIO DE AGRICULTURA

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL

Av. La Molina Nº 1915, Lima 12 - Perú  
Teléfono directo: 313- 3303  
Central telefónica 313- 3300 Anexos: 1400 - 1401  
Pag. Web: www.senasa.gob.pe



Pag. 1 de 1

**INFORME DE ENSAYO Nº 106587 - 2014 - AG-SENASA-OCDP-UCDSV**

1. Información del solicitante: **Nº de Solicitud: 106849 - 2014**  
 Nombre: ASOCIACION DE PRODUCTORES AGROPECUARIOS LA ANDINA DE MARCARA  
 Dirección: HUAMANGA - Ayacucho / Huamanga / Ayacucho  
 Nº Expediente: Origen Material Vegetal: NO INDICA

2. Información de la Actividad  
 Servicio Externo

3. Fecha de Recepción de la muestra: Procedencia de la muestra: País:  
 02/12/2014 07:49 Ayacucho / Huamanga / Ayacucho PERU

4. Cultivo:  
 Nombre Científico: *Solanum tuberosum*  
 Nombre Común: Papa Cultivar: CCE 3

5. Resultado por Método de Ensayo:

**VIROLOGIA** Código Muestra: 201410684901000 Tipo: PLANTULA Cantidad: 1 Unos

**MET-UCDSV/vir-002** DAS-ELISA PARA DETECCIÓN DE VIRUS FITOPATÓGENOS EN MATERIAL VEGETAL

Fecha de Recepción: 02/12/2014

Fecha de Término: 04/12/2014



Nº	Resultado	Información
1	Negativo a la presencia de	Potato virus Y
2	Negativo a la presencia de	Potato virus X



6. Muestreo: No Aplica

7. Información adicional:

Lugar y Fecha:  
 La Molina, 04 de Diciembre del 2014

   
 Nombre y Firma del Director (Sello oficial)

**Consideraciones:**

Los tiempos de duración del servicio están expresados en días hábiles y son contabilizados a partir de la fecha de recepción de la muestra en el Laboratorio hasta la fecha de emisión del resultado.

Los tiempos de duración del servicio pueden aumentar de acuerdo a la cantidad de muestras que solicite procesar el usuario, en cuyo caso se concertará el plazo al momento de efectuarse el contrato.

REG-UCDSV-003 del PRO-UCDSV-003, vigente.

NOTA: El Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal sólo se responsabiliza por los resultados emitidos de la muestra indicada en el punto 4 del presente Informe.

Fecha y Hora: 17/12/2014 10:53



MINISTERIO DE AGRICULTURA

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL

Av. La Molina N° 1915, Lima 12 - Perú  
Teléfono directo: 313-3303  
Central telefónica 313-3300 Anexos: 1400 - 1401  
Pag. Web: www.senasa.gob.pe



Pag. 1 de 1

INFORME DE ENSAYO N° 106588 - 2014 - AG-SENASA-OCDP-UCDSV

1. Información del solicitante: N° de Solicitud: 106850 - 2014  
 Nombre: ASOCIACION DE PRODUCTORES AGROPECUARIOS LA ANDINA DE MARCARA  
 Dirección: HUAMANGA - Ayacucho / Huamanga / Ayacucho  
 N° Expediente: Origen Material Vegetal: NO INDICA

2. Información de la Actividad  
 Servicio Externo

3. Fecha de Recepción de la muestra: Procedencia de la muestra: País:  
 02/12/2014 07:50 Ayacucho / Huamanga / Ayacucho PERU

4. Cultivo:  
 Nombre Científico: *Solanum tuberosum*  
 Nombre Común: Papa Cultivar: NATIVA - CCT 1

5. Resultado por Método de Ensayo:

VIROLOGIA Código Muestra: 201410685001000 Tipo: PLANTULA Cantidad: 1Unds

MET-UCDSV/vir-002 DAS-ELISA PARA DETECCIÓN DE VIRUS FITOPATÓGENOS EN MATERIAL VEGETAL

Fecha de Recepción: 02/12/2014

Fecha de Término: 04/12/2014

N°	Resultado	Información
1	Negativo a la presencia de	Potato virus Y
2	Negativo a la presencia de	Potato virus X

N° de Informe



\* 2 0 1 4 1 0 6 5 8 8

N° de Solicitud




\* 2 0 1 4 1 0 6 5 8 0

6. Muestreo: No Aplica

7. Información adicional:

Lugar y Fecha:  
 La Molina, 04 de Diciembre del 2014


  
 Nombre y Firma del Director (Sello oficial)

Consideraciones:

Los tiempos de duración del servicio están expresados en días hábiles y son contabilizados a partir de la fecha de recepción de la muestra en el Laboratorio hasta la fecha de emisión del resultado

Los tiempos de duración del servicio pueden aumentar de acuerdo a la cantidad de muestras que solicite procesar el usuario, en cuyo caso se concertará el plazo al momento de efectuarse el contrato

REG-UCDSV-003 del PRO-UCDSV-003, vigente.

NOTA: El Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal sólo se responsabiliza por los resultados emitidos de la muestra indicada en el punto 4 del presente Informe

Fecha y Hora: 12/12/2014 10:54



MINISTERIO DE AGRICULTURA

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL

Av. La Molina N° 1915, Lima 12 - Perú  
Teléfono directo: 313- 3303  
Central telefónica 313- 3300 Anexos: 1400 - 1401  
Pag. Web: www.senasa.gob.pe



Pag. 1 de 1

**INFORME DE ENSAYO N° 106589 - 2014 - AG-SENASA-OCDP-UCDSV**

1. Información del solicitante: N° de Solicitud: 106851 - 2014  
 Nombre: ASOCIACION DE PRODUCTORES AGROPECUARIOS LA ANDINA DE MARCARA  
 Dirección: HUAMANGA - Ayacucho / Huamanga / Ayacucho  
 N° Expediente: Origen Material Vegetal: NO INDICA

2. Información de la Actividad  
 Servicio Externo

3. Fecha de Recepción de la muestra: Procedencia de la muestra: País:  
 02/12/2014 07:51 Ayacucho / Huamanga / Ayacucho PERU

4. Cultivo:  
 Nombre Científico: *Solanum tuberosum*  
 Nombre Común: Papa Cultivar: NATIVA - CCE 5

5. Resultado por Método de Ensayo:

**VIROLOGIA** Código Muestra: 201410685101000 Tipo: PLANTULA Cantidad: 1 Unds

**MET-UCDSV/Vir-002** DAS-ELISA PARA DETECCIÓN DE VIRÚS FITOPATÓGENOS EN MATERIAL VEGETAL

Fecha de Recepción : 02/12/2014

Fecha de Término: 04/12/2014

Nº	Resultado	Información
1	Negativo a la presencia de	Potato virus Y
2	Negativo a la presencia de	Potato virus X

Nº de Informe



\* 2 0 1 4 1 0 6 5 8 9

Nº de Solicitud



\* 2 0 1 4 1 0 6 8 5 1

6. Muestreo: No Aplica

7. Información adicional:

Lugar y Fecha:

La Molina, 04 de Diciembre del 2014



MINISTERIO DE AGRICULTURA Y RIEGO  
SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL - LA MOLINA

*[Firma]*  
Ing. Jorge TRUJILLO HUALAMACHA  
Director del Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal

Nombre y Firma del Director (Sello oficial)

Consideraciones:

Los tiempos de duración del servicio están expresados en días hábiles y son contabilizados a partir de la fecha de recepción de la muestra en el Laboratorio hasta la fecha de emisión del resultado.

Los tiempos de duración del servicio pueden aumentar de acuerdo a la cantidad de muestras que solicite procesar el usuario, en cuyo caso se concordará el plazo al momento de efectuarse el contrato.

REG-UCDSV-003 del PRO-UCDSV-003, vigente.

NOTA: El Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal sólo se responsabiliza por los resultados emitidos de la muestra indicada en el punto 4 del presente Informe.

Fecha y Hora: 17/12/2014 10:54



MINISTERIO DE AGRICULTURA

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL

Av. La Molina N° 1915, Lima 12 - Perú  
Teléfono directo: 313- 3303  
Central telefónica 313- 3300 Anexos: 1400 - 1401  
Pag. Web: www.senasa.gob.pe



Pag. 1 de 1

**INFORME DE ENSAYO N° 106590 - 2014 - AG-SENASA-OCDP-UCDSV**

1. Información del solicitante: N° de Solicitud: 106852 - 2014  
 Nombre: ASOCIACION DE PRODUCTORES AGROPECUARIOS LA ANDINA DE MARCARA  
 Dirección: HUAMANGA - Ayacucho / Huamanga / Ayacucho  
 N° Expediente: Origen Material Vegetal: NO INDICA

2. Información de la Actividad  
 Servicio Externo

3. Fecha de Recepción de la muestra: Procedencia de la muestra: País:  
 02/12/2014 07:52 Ayacucho / Huamanga / Ayacucho PERU

4. Cultivo:  
 Nombre Científico: *Solanum tuberosum*  
 Nombre Común: Papa Cultivar: NATIVA - CCT - 7

5. Resultado por Método de Ensayo:

VIROLOGIA Código Muestra: 201410685201000 Tipo: PLANTULA Cantidad: 1 Unds

MET-UCDSV/Vir-002 DAS-ELISA PARA DETECCIÓN DE VIRUS FITOPATÓGENOS EN MATERIAL VEGETAL

Fecha de Recepción: 02/12/2014 Fecha de Término: 04/12/2014

N°	Resultado	Información
1	Negativo a la presencia de	Potato virus Y
2	Negativo a la presencia de	Potato virus X

N° de Informe



\* 2 0 1 4 1 0 6 5 9 0

N° de Solicitud


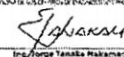


\* 2 0 1 4 1 0 6 8 5 2

6. Muestreo: No Aplica

7. Información adicional:

Lugar y Fecha:  
 La Molina, 04 de Diciembre del 2014


  
 MINISTERIO DE AGRICULTURA - PESCO  
 SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
 CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL  
  
 Ing. Jorge Yanaka Wakamacho  
 Director del Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal

Nombre y Firma del Director (Sello oficial)

**Consideraciones:**

Los tiempos de duración del servicio están expresados en días hábiles y son contabilizados a partir de la fecha de recepción de la muestra en el Laboratorio hasta la fecha de emisión del resultado.

Los tiempos de duración del servicio pueden aumentar de acuerdo a la cantidad de muestras que solicite procesar el usuario, en cuyo caso se concordará el plazo al momento de efectuar el contrato.

REG-UCDSV-003 del PRO-UCDSV-003, vigente.

NOTA: El Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal sólo se responsabiliza por los resultados emitidos de la muestra indicada en el punto 4 del presente Informe.

Fecha y Hora: 17/12/2014 10:55

**FOTOS DEL EXPERIMENTO CON PAPAS NATIVAS PARA  
LIBERACION DE VIRUS PVY.**

**FECHA DE SIEMBRA, 19 DE AGOSTO 2013**



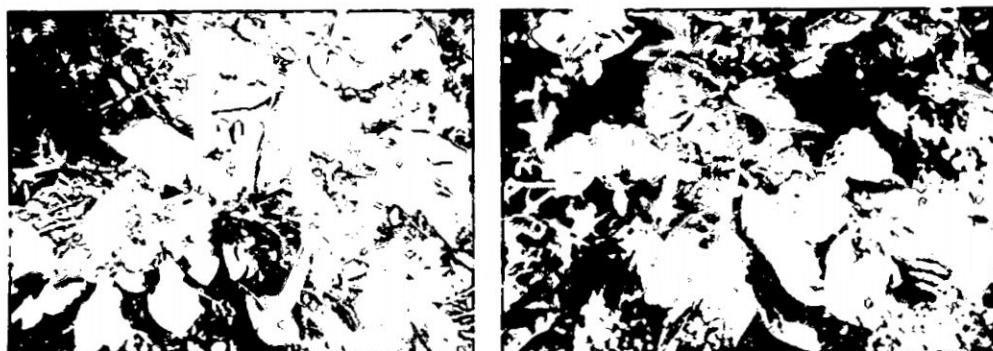
**Semilla de "Leona"**

**semilla "Sangre de toro"**

**semilla de "Cceccorani"**



**Traslado de maceteros al campo experimental de Canaán, E.F.P –  
F.C.A - UNSCH, para su inoculación natural del virus 03/10/2013.**



**Plantas de papa canchan infectadas por virus en 0.5 ha, Canaán.**



**Tesista y cámara de termoterapia con plantas madres antes del experimento.**

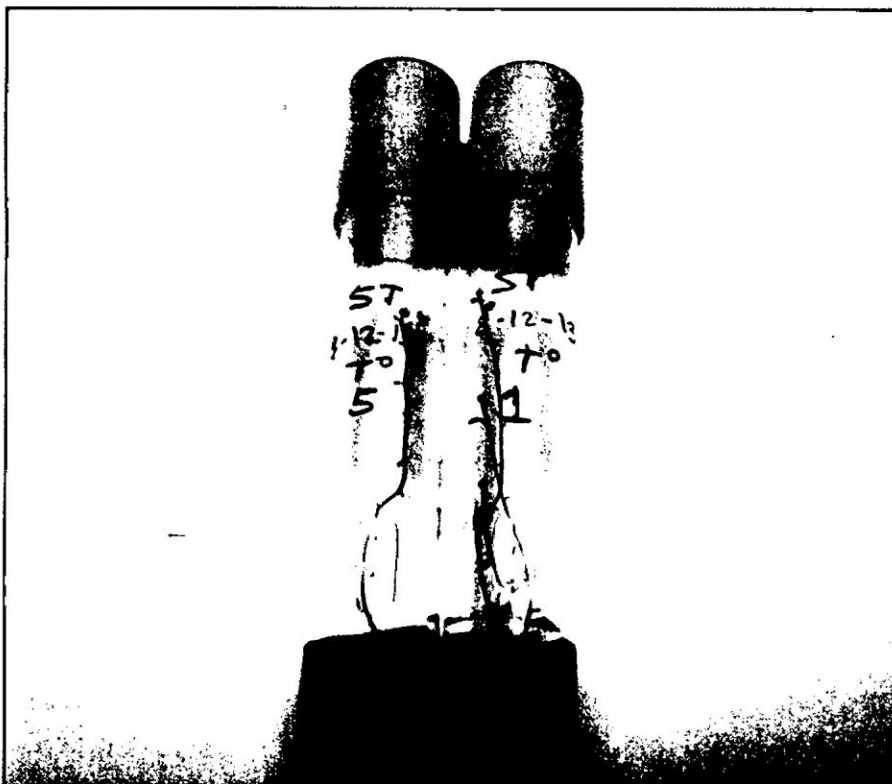


**Plantas madres de las tres variedades con virus en cámara de termoterapia a  $37 \pm 2$  ° C. durante el experimento.**

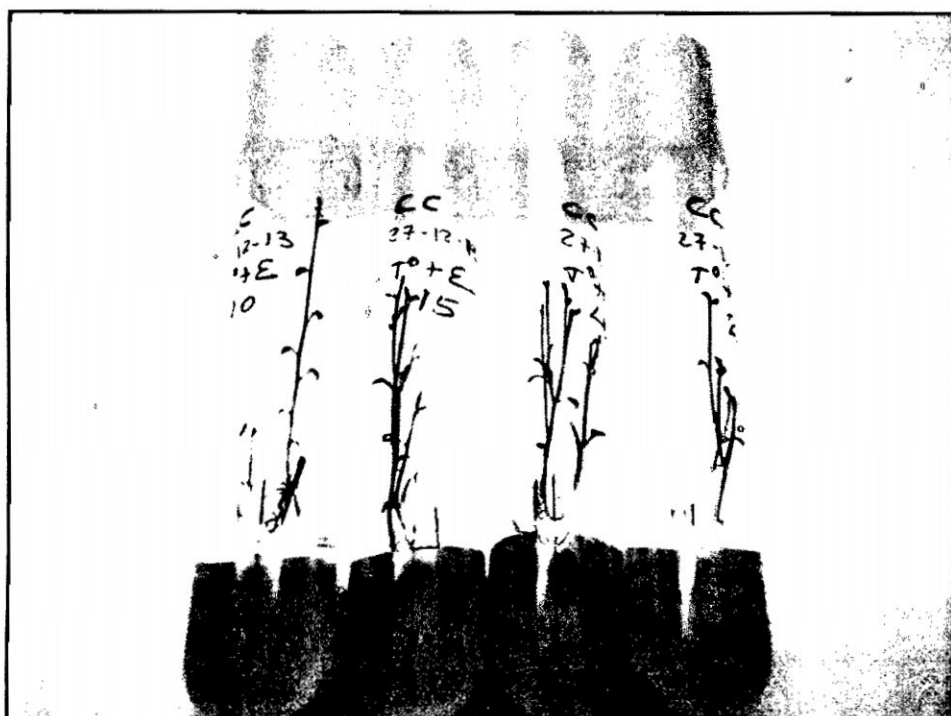


**Meristemo contaminado despues del extirpado.**

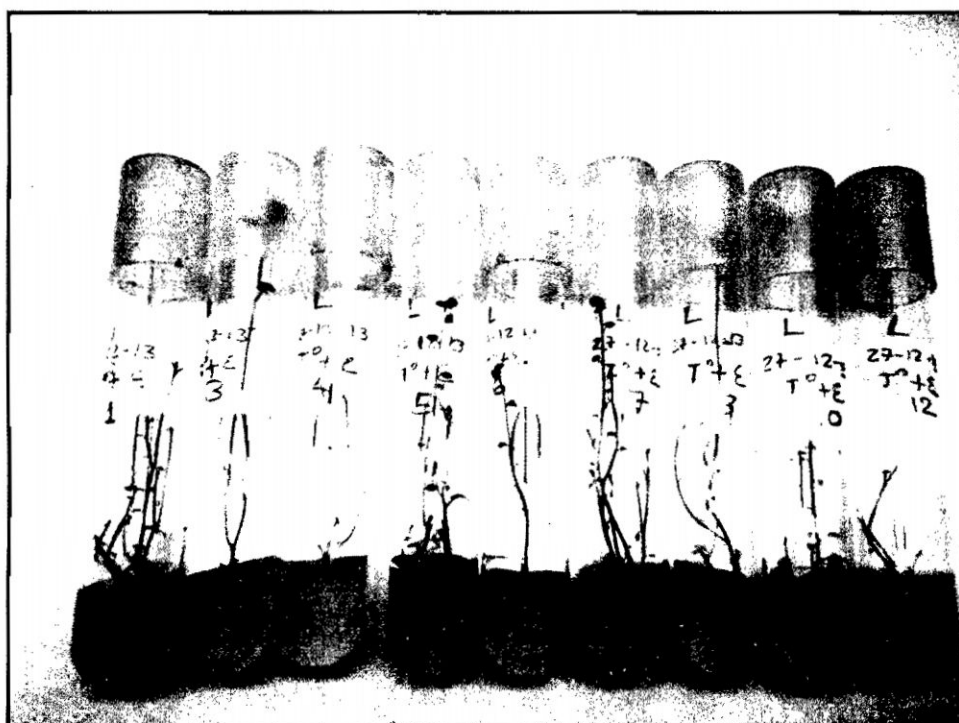
**Meristemo en pleno multiplicación celular.**



**Plántulas de la variedad "Sangre de toro" en pleno crecimiento foliar.**



Plántulas de la variedad "Cceccorani" en pleno crecimiento foliar.



Plántulas de la variedad "Leona" después de termoterapia, electroterapia y cultivo de tejidos, listos para análisis serológico en SENASA - Lima.