

# Diagnóstico de infecciones virales en plantaciones de papa (*Solanum tuberosum* L.) en la zona de Alfaro Ruiz, Costa Rica

Viviana Vásquez<sup>1,†</sup>  
Mauricio Montero-Astúa<sup>1</sup>  
Carmen Rivera<sup>1,2</sup>

**RESUMEN.** La presencia de 13 virus que afectan al cultivo de papa se investigó en el cantón de Alfaro Ruiz (zona de Zarceró) en Costa Rica. Se muestrearon 14 plantaciones de papa, y de cada una se recolectaron muestras foliares de 20 plantas, para un total de 280 muestras. Cada muestra se analizó individualmente mediante la técnica de ELISA, utilizando anticuerpos capaces de detectar 13 virus que afectan el cultivo de la papa. Se detectó la presencia de 12 de los virus analizados. En ninguna de las muestras analizadas se detectó la presencia del APLV. La incidencia de los virus encontrados fue 81,4% PVX; 46,4% PLRV; 47,14% PVS; 43,9% PVY; 27,9% PVA; 20,7% PVM; 17,14% PAMV; 11,79% AMV; 9,28% PVT; 7,8% PVV; 7,86% PMTV; y 3,57% APMoV. Únicamente tres plantas se encontraron libres de todos los virus analizados y el 91% de las muestras presentó infecciones mixtas, siendo las infecciones con dos, tres o cuatro virus las más comunes. Se detectaron al menos seis virus distintos en cada una de las 14 plantaciones. Los resultados destacan la necesidad de fortalecer el Programa Nacional de Certificación de Semilla de Papa y de capacitar a los agricultores en el manejo de su semilla.

**Palabras clave:** virus de las plantas, infecciones mixtas, ELISA, epidemiología, certificación de semillas.

**ABSTRACT. Diagnostic of viral infections in potato (*Solanum tuberosum*) in Alfaro Ruiz, Costa Rica.** The occurrence of 13 plant viruses known to infect potato fields was analyzed in the area of Alfaro Ruiz (Zarceró) in Costa Rica. A survey was conducted in 14 potato fields. At each field, leaf tissue was collected from 20 plants. Each sample was individually analyzed by ELISA, using antibodies able to detect 13 different potato-infecting viruses. With the exception of APLV, all the probed viruses were detected. The incidence of each virus was 81.4% PVX, 46.4% PLRV, 47.14% PVS, 43.9% PVY, 27.9% PVA, 20.7% PVM, 17.14% PAMV, 11.79% AMV, 9.28% PVT, 7.8% PVV, 7.86% PMTV and 3.57% APMoV. Only three plant samples were free from all the tested viruses and 91% of the samples presented mixed infections. Simultaneous infections with two, three or four viruses were very common. At least six different viruses were detected at each field. These results point out the need to improve the national potato seed certification program and train potato producers in the management of potato seed lots.

**Keywords:** plant viruses, mixed infections, ELISA, epidemiology, seed certification.

## Introducción

El cultivo de la papa es el cuarto alimento en importancia en el mundo después del trigo, el maíz y el arroz. En el año 2004 la producción mundial de papa fue de aproximadamente 330 millones de toneladas (FAO

2007). Costa Rica no es ajena a esta realidad, donde el cultivo y consumo de la papa son de importancia económica. En el país hay aproximadamente 1500 pequeños y medianos productores de papa. La

<sup>1</sup> Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular (CIBCM), Universidad de Costa Rica, 2060, San José, **Costa Rica**. montero-mau@costarricense.cr

<sup>2</sup> Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, 2060, San José, **Costa Rica**. crivera@racsa.co.cr

<sup>†</sup> Viviana Vásquez falleció el 14-XII-2005.

producción anual varía entre 80.000 y 90.000 toneladas métricas, y se cultiva alrededor de 3200 ha de papa, localizadas principalmente en dos zonas del país: Cartago (aprox. 2800 ha) y Zarcero (aprox. 400 ha) (Parral 2004). Sin embargo, las plantaciones de papa son afectadas por diversos hongos, bacterias y virus (Brenes et ál. 2002) que provocan pérdidas en la cosecha y aumentan los costos de producción.

Las enfermedades virales en el cultivo de la papa pueden reducir el vigor, disminuir el rendimiento y causar infecciones secundarias en generaciones subsecuentes de tubérculos progenie de plantas infectadas. El efecto que pueden causar depende en gran medida de la variedad sembrada y del tipo de virus (Salazar 1995). Por ejemplo, recientemente en EUA se registraron reducciones de hasta el 63,5% en rendimiento de papa infectada con PVY (*Potato virus Y*). La reducción en rendimiento varió según el cultivar de papa y la intensidad de los síntomas, y no hubo un efecto importante de la nutrición con nitrógeno (Whitworth et ál. 2006). Asimismo, en Costa Rica se determinó en pruebas en invernadero una reducción del 26% en el rendimiento de plantas de la variedad Floresta infectadas con PVX (*Potato virus X*; Vásquez et ál. 2004).

En la zona norte de Cartago, principal área productora de papa de Costa Rica, se han identificado infecciones virales en campo con PVX, PVY y *Potato leafroll virus* (PLRV), virus considerados como los más importantes en este cultivo. Además, se identificaron infecciones con otros virus de importancia económica, como el *Potato virus A* (PVA), *Potato virus M* (PVM) y *Potato virus S* (PVS) (Hord y Rivera 1998, Vásquez et ál. 2006). Aun cuando no se han cuantificado las pérdidas debidas a estas infecciones en el país, es de esperar que la ocurrencia de dichos virus afecte el desarrollo y rendimiento de las plantaciones (Salazar 1995, Slack y German 2001).

También se detectaron infecciones con otros virus que, aunque no son importantes económicamente, pueden afectar el rendimiento dependiendo de la variedad sembrada, tales como el *Potato aucuba mosaic virus* (PAMV), *Potato virus T* (PVT), *Potato virus V* (PVV), *Andean potato mottle virus* (APMoV) y *Potato mop-top virus* (PMTV) (Vásquez et ál. 2006). Este último virus ha tomado importancia en los últimos años en varias partes del mundo por su efecto en los tubérculos de papa (Sandgren 1996, Lambert et ál. 2003, Xu et ál. 2004). Este virus, junto con la raza NTN (*Necrotic Tuber Necrosis*) del virus PVY, se

consideran enfermedades emergentes y una amenaza a la producción de papa en Latinoamérica (Secor y Rivera-Varas 2004).

El conocimiento de las enfermedades de un cultivo en una región es el primer paso para el desarrollo de medidas de control y manejo. Este conocimiento permite la estandarización de las técnicas de diagnóstico adecuadas en la región o cultivo; la utilización de las variedades menos susceptibles a las enfermedades presentes; la identificación de las prioridades y necesidades de investigación; y capacitar a los agricultores para que reconozcan las enfermedades y las controlen o prevengan. Asimismo, es posible desarrollar políticas que eviten la contaminación de nuevas áreas en el país e incluso la erradicación de algunas de las enfermedades. Por último, actualmente la identificación de los agentes patológicos de un cultivo en una región tiene importancia cuarentenaria e incide en el comercio internacional y en aspectos de seguridad nacional de los países (Madden y Wheelis 2003, Jones 2004, Ward et ál. 2004, Webster et ál. 2004, Lees et ál. 2005).

En Costa Rica no se cuenta con información sobre la presencia de virus en plantaciones de papa en la zona de Zarcero, la cual se cultiva en forma más reciente que la zona de Cartago. El objetivo de este trabajo fue evaluar la incidencia de PVX, PVY, PLRV, PVA, PVM, PVS, PAMV, PMTV, PVV, PVT, APMoV, *Alfalfa mosaic virus* (AMV), y *Andean potato latent virus* (APLV) en plantaciones de papa en la zona de Zarcero y compararla con la presencia de virus informada en la zona de Cartago.

## Materiales y métodos

### Recolección de muestras

Se realizó un muestreo en 14 parcelas de papa en el cantón de Alfaro Ruiz, provincia de Alajuela, conocida como zona de Zarcero. Todas las parcelas se ubican entre 1800 y 2200 msnm. La recolección de muestras se realizó entre los años 2002 y 2003. La ubicación geográfica de la finca, el estado fisiológico del cultivo (plantas en flor) y la disponibilidad de los agricultores para colaborar en el proyecto fueron los criterios utilizados para la definición de los lugares de muestreo. Las parcelas seleccionadas tenían de 500 a 750 m<sup>2</sup>. Para el muestreo se dividió cada parcela en cuatro subparcelas semejantes. En cada subparcela se muestreó en forma de zig-zag (Campbell y Madden 1990) cinco plantas en floración, de cada una de las cuales se recolectaron entre 10 y 12 hojas distribuidas

en la parte media y superior de la planta. En total se muestrearon 20 plantas por parcela para un total de 280 muestras.

### Procesamiento y análisis de las muestras

Las hojas recolectadas se empacaron en bolsas individuales y se transportaron al laboratorio. Luego se congelaron a  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  por un período máximo de tres semanas. Las muestras se maceraron con un macerador eléctrico de rodillo a una dilución de 1:3 p/v en una solución amortiguadora fosfato salino (PBS) que contenía fosfato de potasio 0,01 M, pH 7,4; cloruro de sodio al 0,85%; sulfito de sodio al 0,13%; PVP al 2%; albúmina bovina al 0,2%; y Tween-20 al 2%. Los extractos de las muestras de las 20 plantas por parcela se analizaron individualmente, utilizando el método DAS-ELISA (*double antibody sandwich enzyme-linked immuno-sorbent assay*), para detectar la presencia de PVA, PVM, PVS, PLRV, PVX, PVY, APLV, PAMV, PVT, PVV y AMV, con anticuerpos comerciales y protocolos de la casa comercial Agdia (Elkhart, Indiana, EUA). Para cada virus se emplearon controles positivos y negativos adquiridos de la casa Agdia. Las muestras se analizaron para PMTV y APMoV mediante TAS-ELISA (*triple antibody sandwich enzyme-linked immuno-sorbent assay*) con reactivos, controles (positivos y negativos) y protocolos de la casa comercial ADGEN (actualmente Neogen Europe Ltd., Auchincruive, Scotland, UK). Las lecturas de absorbancia a 460 nm se tomaron en un lector de ELISA Dynex MRX, 120 minutos después de añadir el sustrato. Como sustrato se utilizó p-nitrofenil fosfato a una concentración de 1 mg/ml, en una solución amortiguadora de pH 9,8 que contenía 9,7% de dietanolamina y 0,01% de cloruro de magnesio hexahidratado. Se consideraron como plantas infectadas o positivas todas las muestras con un valor de absorbancia mayor o igual a la media de la absorbancia de las muestras sanas control ( $n = 2$ ), más tres veces la desviación estándar (Sutula et ál. 1986). Todos los valores menores a este criterio se consideraron plantas no infectadas o negativas.

### Resultados y discusión

En la zona de Zarcero, se detectó la presencia de 12 de los 13 virus analizados; algunos de éstos presentan una alta incidencia: PVX (81,4%), PLRV (46,4%), PVS (47,14%), PVY (43,9%), PVA (27,9%), PVM (20,7%), PAMV (17,14%), AMV (11,79%), PVT (9,28%), PVV

(7,8%), PMTV (7,86%) y APMoV (3,57%). Estos virus, excepto el AMV, se habían informado previamente para la zona de Cartago (Solís 1989, Hord y Rivera, 1998, Vásquez et ál. 2006). Únicamente el APLV no se detectó en ninguna de las muestras; este virus tampoco se detectó en un estudio previo en la zona de Cartago (Vásquez et ál. 2006).

Ninguna de las 14 parcelas incluidas en el muestreo se encontró libre de virus; por el contrario, todas las parcelas presentaron al menos seis virus distintos y una parcela presentó los 12 virus detectados. El PVX, PVY y PLRV se detectaron en todas las parcelas analizadas y los virus PVA, PVS, PVM, PAMV, PVV y PVT se detectaron en más del 50% de las mismas. El PMTV y el APMoV, respectivamente, se detectaron en seis y tres de las 14 parcelas muestreadas.

Solo tres muestras de papa de las 280 analizadas se encontraron libres de los 13 virus evaluados. Por el contrario, se presentaron infecciones mixtas en 91% de las muestras. Las infecciones mixtas con dos, tres o cuatro virus fueron las más comunes, con 25,4; 23,6; y 17,9% de las muestras, respectivamente. También se detectaron en menor porcentaje infecciones mixtas con cuatro o más virus, hasta un máximo de nueve virus en una misma planta.

Al comparar los resultados obtenidos en este estudio con el realizado en Cartago por Vásquez et ál. (2006), se observa que los seis virus—PVX, PLRV, PVS, PVY, PVA y PVM— informados desde hace varios años en Cartago (Hord y Rivera 1998) presentan una mayor incidencia en la zona de Zarcero. La incidencia de los virus PLRV, PVY y PVS se encuentra cercana o dentro de los ámbitos de ocurrencia informados en otros países (Sánchez et ál. 1991, Rodríguez 1993, Djilani Khouadja et ál. 2003, Choueiri et ál. 2004, Finetti-Sialer et ál. 2005).

El PVX presentó la mayor incidencia en Zarcero (81,4%) y, en general, es mayor a la incidencia del virus informada en otros países (Sánchez et ál. 1991, Rodríguez 1993, Choueiri et ál. 2004). Una alta incidencia de este virus, mayor a un 77%, se ha detectado en Cartago desde 1980 (Ramírez-Martínez y Gámez 1980, Hord y Rivera 1998, Vásquez et ál. 2006). El PVX es un virus de gran importancia en papa, ya que puede provocar una disminución del rendimiento de entre 15 y 20%; sin embargo, su efecto puede ser mayor en infecciones mixtas con PVA y PVY (Slack 2001b). Los virus PLRV (46,4%) y PVA (27,9%), el tercero y quinto respectivamente respecto a su incidencia en Zarcero, también son considerados

como factores importantes en la disminución del rendimiento del cultivo.

El caso del virus PVY, que se encontró en el 43,9% de las muestras, es de especial importancia. Este virus es uno de los que provoca mayor efecto negativo sobre el rendimiento del cultivo, especialmente en la cosecha de primera calidad y cuando el tubérculo semilla se encuentra infectado por el virus (Salazar 1995, Hane y Hamm 1999, Nolte et ál. 2004). Existen distintas razas del virus, como PVY<sup>O</sup>, PVY<sup>N</sup> y PVY<sup>C</sup> (Blanco-Urgoiti et ál. 1998, Piche et ál. 2004, Crosslin et ál. 2006). Dentro de la raza PVY<sup>N</sup>, existen aislamientos del virus, denominados PVY<sup>NTN</sup>, que producen síntomas internos y externos en el tubérculo, lo cual provoca su pérdida. Estos aislamientos son de importancia cuarentenaria y se consideran una amenaza a la producción de papa en Latinoamérica (Secor y Rivera-Varas 2004). Recientemente se describió un aislamiento nuevo, denominado PVY<sup>N:O</sup>, que también causa lesiones en los tubérculos y existe gran preocupación porque se ha visto un aumento drástico en su aparición (Singh et ál. 2003, Piche et ál. 2004, Crosslin et ál. 2006). Las razas PVY<sup>N</sup> y PVY<sup>O</sup> se detectaron en la zona papera de Cartago, siendo la raza PVY<sup>N</sup> la más abundante (Vásquez 2002). Por lo tanto, existe el riesgo de que haya o se originen, en el país, aislamientos del virus que afecten los tubérculos. Así, el alto porcentaje de incidencia del PVY en Zarcero es una amenaza latente para la producción de papa de la zona. Dada la presencia de las razas N y O en Cartago, se recomienda evaluar la zona de Zarcero para conocer si ambas razas también se encuentran presentes.

Los virus PAMV, PVT, PMTV, APMoV y PVV, que podrían considerarse de introducción posterior al país o que han sido detectados sólo recientemente, presentaron una menor incidencia en la zona de Zarcero respecto a lo informado para Cartago (Vásquez et ál. 2006). De estos virus, es importante destacar el PMTV, que también es considerado como una enfermedad emergente y una amenaza potencial para la producción de papa en Latinoamérica (Secor y Rivera-Varas 2004) y Norteamérica (Xu et ál. 2004), y ha sido de gran importancia en Europa (Sandgren 1996). Este virus, al igual que los aislamientos de PVY<sup>NTN</sup>, produce lesiones en los tubérculos, provocando que pierdan su valor comercial. El vector de este virus, *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* se detectó en Costa Rica (Montero-Astúa et ál. 2002).

Por último, se detectó el AMV con una incidencia de 11,79%. La presencia de este virus no se ha

investigado en el área de Cartago. El AMV provoca la aparición de áreas de color amarillo brillante en el follaje (cállico); además, existen razas del virus que provocan lesiones en los tubérculos (Salazar 1995, Slack 2001a). La presencia de este virus es importante debido a que presenta un amplio ámbito de hospederos y, por tanto, puede afectar otros cultivos de la zona.

Es importante destacar el alto porcentaje de infecciones mixtas, que muy probablemente son las causantes de los mosaicos rugosos severos observados en muchas de las muestras. Las infecciones mixtas elevan el riesgo de reducción de la cosecha y la degeneración del cultivo en siembras consecutivas.

La zona de Zarcero posee menos trayectoria en el cultivo de la papa, motivo por el cual se esperaba que esta zona presentara una menor incidencia de enfermedades virales. Sin embargo, la semilla de papa que se ha utilizado en la zona proviene de Cartago, por lo que también se puede suponer que esta semilla pudo venir contaminada y los virus dispersarse mediante tubérculos y vectores a través de la zona. La presencia de numerosas especies de áfidos (Aphididae, Hemiptera), vectores de algunos de los virus, fue detectada en plantaciones de papa en Cartago y Rancho Redondo (Vásquez et ál. datos sin publicar) y las especies de áfidos se encuentran distribuidas en el país (Voegtlin et ál. 2003).

El número de virus detectados en Zarcero y el alto porcentaje de incidencia de muchos de ellos, así como los datos existentes para la zona de Cartago, resaltan la necesidad de fortalecer el Programa Nacional de Certificación de Semilla de Papa en el país. Este programa debe ser complementado con la detección asistida por ELISA y/o PCR de los virus, así como con la capacitación de los agricultores para el manejo de su semilla y el conocimiento de las distintas virosis que amenazan su cultivo (Slack y Singh 1998, Waterworth 1998).

En India se demostró que el uso de la técnica de ELISA para la evaluación de los lotes de papa tiene un impacto importante sobre la incidencia de los virus (Kumar et ál. 2000, Kumar et ál. 2003). Asimismo, capacitar a los agricultores e introducir mejoras en los sistemas formal y tradicional de producción de semilla de papa son de gran importancia para mejorar el rendimiento del cultivo. Por otra parte, estas mejoras en el sistema de producción y el conocimiento de las enfermedades que afectan al cultivo en un área determinada son una necesidad, y una responsabilidad, para el intercambio y evaluación de germoplasma



de papa y para la comercialización de los tubérculos (Hidalgo e Ilangantileke 2000, Lozoya-Saldaña 2000).

## Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Fondo de Incentivos del Ministerio de Ciencia y Tecnología y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de Costa Rica (Fondo de Incentivos MICIT-CONICIT) y por la Universidad de Costa Rica. Se agradece la colaboración y anuencia de todos los productores de papa de la zona de Zarcerro que colaboraron en esta investigación.

## Literatura citada

- Blanco-Urgoiti, B; Sánchez, F; Pérez de San Román, C; Dopazo, J; Ponz, F. 1998. Potato virus Y group C isolates are a homogeneous pathotype but two different genetic strains. *Journal of General Virology* 79:2037-2042.
- Brenes, A; Vásquez, V; Rivera, C. 2002. Principales enfermedades y plagas de la papa en Costa Rica. Costa Rica, EUNED. 98 p.
- Campbell, CL; Madden, LV. 1990. Introduction to plant disease epidemiology. Estados Unidos, Wiley & Sons. 532 p.
- Choueiri, E; El-Zammar, S; Jreijiri, F; Mnayer, D; Massaad, R; Saad, AT; Hanna, L; Varveri, C. 2004. Phytosanitary status of potato in the Bekaa valley in Lebanon. *EPPO Bulletin* 34:117-121.
- Crosslin, JM; Hamm, PB; Hane, DC; Jaeger, J; Brown, CR; Shiel, PJ; Berger, PH; Thornton, RE. 2006. The occurrence of PVY<sup>O</sup>, PVY<sup>N</sup>, and PVY<sup>N:O</sup> strains of potato virus Y in certified potato seed lot trials in Washington and Oregon. *Plant Disease* 90:1102-1105.
- Djilani Khoudja, F; Guyader, S; Gorsane, F; Khamassy, N; Rouzé, J; Marrakchi, M; Fakhfakh, H. 2003. Diagnosis and molecular analysis of Potato leafroll virus isolates in Tunisia. *EPPO Bulletin* 33:361-368.
- FAO. 2007. FAO Statistical Database (FAOSTAT) (en línea). Disponible en <http://faostat.fao.org>.
- Finetti-Sialer, M; Mërkuri, J; Tauro, G; Myrta, A; Gallitelli, D. 2005. Viruses of vegetable crops in Albania. *EPPO Bulletin* 35: 491-495.
- Hane, DC; Hamm, PB. 1999. Effects of seedborne potato virus Y infection in two potato cultivars expressing mild disease symptoms. *Plant Disease* 83:43-45.
- Hidalgo, OA; Ilangantileke, S. 2000. Situation and perspectives of seed potato systems in countries of South and West Asia. *In* Paul Khurana, SM; Shekhawat, GS; Singh, BP; Pandey, SK. eds. Potato, global research & development. Global Conference on Potato (New Delhi, December 6-11, 1999). Proceedings. Shimla, India, Indian Potato Research Association. v. 1, p. 376-389.
- Hord, M; Rivera, C. 1998. Prevalencia y distribución geográfica de los virus PVX, PVY, PVA, PVM, PVS, y PLRV en el cultivo de la papa en la zona norte de Cartago, Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 22:137-143.
- Jones, RAC. 2004. Using epidemiological information to develop effective integrated virus disease management strategies. *Virus Research* 100:5-30.
- Kumar, S; Singh, S; Chaubey, IP; Jeswani, MD; Khanna, RN; Rai, RP; Sharma, J; Garg, VK; Ravichandran, G; Singh, S; Bhardwaj, VP. 2000. Impact of ELISA testing on health improvement of nucleus seed potato. *In* Paul Khurana, SM; Shekhawat, GS; Singh, BP; Pandey, SK. eds. Potato, global research & development. Global Conference on Potato (New Delhi, December 6-11, 1999). Proceedings. Shimla, India, Indian Potato Research Association. v. 1, p. 426-429.
- Kumar, S; Rai, RP; Garg, ID; Paul Khurana, SM. 2003. ELISA & ISEM detection of viruses for better crop health in potato. *Journal of Indian Potato Association* 30(1-2):117-118.
- Lambert, DH; Levy, L; Mavrodieva, VA; Johnson, SB; Babcock, MJ; Vayda, ME. 2003. First Report of *Potato mop-top virus* on Potato from the United States. *Plant Disease* 87:872.
- Lees, AK; Wale, SJ; van de Graaf, P; Brierley, JL. 2005. The use of molecular diagnostics to investigate the epidemiology of potato diseases. *Australasian Plant Pathology* 34:449-455.
- Lozoya-Saldaña, H. 2000. Phytosanitation and quarantine considerations in the international exchange and evaluation of potato germplasm. *In* Paul Khurana, SM; Shekhawat, GS; Singh, BP; Pandey, SK. eds. Potato, global research & development. Global Conference on Potato (New Delhi, December 6-11, 1999). Proceedings. Shimla, India, Indian Potato Research Association. v. 1, p. 370-375.
- Madden, LV; Wheelis, M. 2003. The threat of plant pathogens as weapons against U.S. crops. *Annual Review of Phytopathology* 41:155-176.
- Montero-Astúa, M; Vásquez, V; Rivera, C. 2002. Occurrence of potato powdery scab caused by *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* in Costa Rica. *Plant Disease* 86:1273.
- Nolte, P; Whitworth, JL; Thornton, MK; McIntosh, CS. 2004. Effect of seedborne *Potato virus Y* on performance of Russet Burbank, Russet Norkotah, and Shepody potato. *Plant Disease* 88:248-252.
- Parral, CA. 2004. CIA con nuevas variedades de papa. *Girasol* 7(24):5-10. (También disponible en <http://www.vinv.ucr.ac.cr/girasol/archivo/girasol24/ciapapa.html>).
- Piche, LM; Singh, RP; Nie, X; Gudmestad, NC. 2004. Diversity among *Potato virus Y* isolates obtained from potatoes grown in the United States. *Phytopathology* 94:1368-1375.
- Ramírez-Martínez, C; Gámez, R. 1980. Prevalencia del virus X en plantaciones comerciales de papa en la zona del volcán Irazú, Cartago, Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 4(1):79-82.
- Rodríguez, Y. 1993. Incidencia de los virus PVX, PVS, PVY y PLRV y pérdidas de rendimientos en semillas de papa nacional e importada en Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (Maracay)* 19:102-103.
- Salazar, LF. 1995. Los Virus de la Papa y su Control. Perú, Centro Internacional de la Papa. 226 p.
- Sánchez, C; Corzo, P; Pérez, OA. 1991. Incidencia de virus en papa y su efecto sobre rendimiento en tres zonas agroecológicas de Colombia. *Revista Latinoamericana de la Papa* 4:36-51.
- Sandgren, M. 1996. On Spraing in Potato, A soil-borne virus disease in potato, significance, detection and variability. Uppsala, Suecia, Fyris-Tryck AB. 41 p.
- Secor, GA; Rivera-Varas, VV. 2004. Emerging diseases of cultivated potato and their impact on Latin America. *Suplemento Revista Latinoamericana de la Papa*, Marzo 2004.
- Singh, RP; McLaren, DL; Nie, X; Singh, M. 2003. Possible escape of a recombinant isolate of *Potato virus Y* by serological indexing and methods of its detection. *Plant Disease* 87:679-685.

- Slack, SA. 2001a. *Alfalfa mosaic virus*. 2 ed. In Stevenson, WR; Loria, R; Franc, GD; Weingartner, DP. eds. Compendium of Potato Diseases. St. Paul, Minnesota, US, American Phytopathological Society. p. 62-63.
- Slack, SA. 2001b. *Potato virus X*. 2 ed. In Stevenson, WR; Loria, R; Franc, GD; Weingartner, DP. eds. Compendium of Potato Diseases. St. Paul, Minnesota, US, American Phytopathological Society. p. 69.
- Slack, SA; German, TL. 2001. Diseases caused by viruses and viroids. 2 ed. In Stevenson, WR; Loria, R; Franc, GD; Weingartner, DP. eds. Compendium of Potato Diseases. St. Paul, Minnesota, US, American Phytopathological Society. p. 57-62.
- Slack, SA; Singh, RP. 1998. Control of viruses affecting potatoes through seed potato certification programs. In Hadidi, A; Khetarpal, RK; Koganezawa, H. eds. Plant Virus Disease Control. St. Paul, Minnesota, US. APS Press, p. 249-260.
- Solís, VC. 1989. Índice de enfermedades de los cultivos agrícolas de Costa Rica. Ministerio de Agricultura y Ganadería-Dirección de Sanidad Vegetal. Convenio Costarricense Alemán de Sanidad Vegetal MAG-GTZ. Costa Rica. 112 p.
- Sutula, CL; Gillett, JM; Morrissey, SM; Ramsdell, DC. 1986. Interpreting ELISA data and establishing the positive-negative threshold. Plant Disease 70(8):722-726.
- Vásquez, V. 2002. Dinámica de los virus en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*) en la zona norte de Cartago, efectos en la producción de los virus PVX y PVY e identificación de aislamientos de PVY. Tesis para optar por el grado de *Magister Scientiae*. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.
- Vásquez, V; Montero-Astúa, M; Rivera, C. 2004. Efecto de la infección de PVX y PVY en la producción de *Solanum tuberosum* en invernadero con los cultivares Floresta y Granola. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología 73:57-63.
- Vásquez, V; Montero-Astúa, M; Rivera, C. 2006. Incidencia y distribución altitudinal de 13 virus en cultivos de *Solanum tuberosum* (Solanaceae) en Costa Rica. Revista de Biología Tropical 54(4):1135-1141.
- Voegtlin, D; Villalobos, W; Sánchez, MV; Saborío, G; Rivera, C. 2003. Guía de los áfidos alados de Costa Rica. Revista de Biología Tropical 51, Supl.2. 228 p.
- Ward, E; Foster, SJ; Fraaije, BA; McCartney, HA. 2004. Plant pathogen diagnostics: immunological and nucleic acid-based approaches. Annals of Applied Biology 145:1-16.
- Waterworth, HE. 1998. Certification for plant viruses-an overview. In Hadidi, A; Khetarpal, RK; Koganezawa, H. eds. Plant Virus Disease Control. St. Paul, Minnesota, US, APS Press. p. 325-331.
- Webster, CG; Wylie, SJ; Jones, MGK. 2004. Diagnosis of plant viral pathogens. Current Science 86:1604-1607.
- Whitworth, JL; Nolte, P; McIntosh, C; Davidson, R. 2006. Effect of *Potato virus Y* on yield of three potato cultivars grown under different nitrogen levels. Plant Disease 90:73-76.
- Xu, H; DeHaan, TL; De Boer, SH. 2004. Detection and confirmation of *Potato mop-top virus* in Potatoes Produced in the United States and Canada. Plant Disease 88:363-367.