

ARTICULO INVITADO

Mejoramiento por resistencia a los principales virus de la papa

E. N. Fernández-Northcote*

RESUMEN

Al presente, la mejor, más económica, y más efectiva alternativa, para controlar la degeneración de la papa es la obtención de cultivares que combinen inmunidad a los virus PVX y PVY con resistencia relativa al PLRV. Aún en países que disponen de programas de tubérculo-semilla, la utilización de los cultivares resistentes simplifica el trabajo a realizar, reduciendo los costos de producción y los volúmenes de semilla a producir desde que el agricultor podrá producir su propia semilla por varias generaciones dado su bajo grado de degeneración.

En el presente trabajo se presentan las características de los niveles de resistencia y las fuentes de dichos niveles de resistencia para los principales virus que afectan al cultivo de la papa. Se exponen técnicas de tamizado y métodos de evaluación de la resistencia a PVX, PVY y PLRV, así como una estrategia de transferencia de la resistencia a clones avanzados o cultivares adaptados y el manejo de los genes de resistencia.

Palabras claves adicionales: Inmunidad, resistencia relativa, tamizado, evaluación de resistencia.

SUMMARY

Breeding For Resistance to Main Potato Viruses

At present the best, most economic and effective alternative, to control potato degeneration is through the development of cultivars combining immunity to PVX and PVY with relative resistance to PLRV. Even in countries where seed-potato programs are available, the use of resistant cultivars simplify the work to perform, reducing costs of production and seed volumes to produce since the farmer will be able to produce its own seed for several generations because of their low degree of degeneration.

Aceptado para publicación: octubre 22, 1992

* Ph.D., Jefe Departamento Fitopatología, Programa de Investigación en Papa (PROINPA), Instituto Boliviano de Tecnología Agropecuaria (IBTA)-Centro Internacional de la Papa (CIP), Casilla 4285, Cochahamba, Bolivia.

In this paper characteristics of the levels of resistance and sources of those levels of resistance for the main viruses affecting potato are presented. Screening are also shown techniques and methods of evaluation for resistance to PVX, PVY and PLRV, as well as an strategy for the transference of resistance to advanced clones or adapted cultivars, and the management of the genes for resistance.

Additional index words: *Immunity, relative resistance, screening, evaluation of resistance.*

Al presente se han reportado alrededor de 28 virus que infectan al cultivo de la papa (41). De éstos, el virus X (PVX), virus Y (PVY), y el virus del enrollamiento de la hoja (PLRV) de la papa, son los más importantes a nivel mundial. En algunos países europeos y asiáticos el virus M de la papa (PVM) constituye otro virus de importancia económica. La infección conjunta del PVX y PVY, o de cualquiera de ellos o ambos con el PLRV o el virus A de la papa (PVA), reportado en algunos países del cono sur latinoamericano, lleva a pérdidas económicas mayores. La severidad del efecto sinérgico puede conducir a la destrucción del cultivo, dependiendo ello de la interacción entre el cultivar, medio ambiente, vector y virus o variantes (strains) del virus.

La utilización de tubérculos-semillas provenientes de las plantas infectadas en sucesivas campañas de siembra, fue algo común en el pasado y todavía lo es en países en desarrollo. Ello conduce a la degeneración del cultivar con pérdidas en los rendimientos superiores al 80% (21). No hay duda que éste ha sido, y todavía lo es, el principal factor limitante de la producción de papa en países en desarrollo.

El agricultor no podrá utilizar tubérculos-semillas de su propia cosecha y tendrá que buscar una fuente de semilla limpia, lo que normalmente representa del 40 al 60% del costo total de producción.

Desde comienzos del presente siglo, los reportes indican que agricultores europeos observaron que los tubérculos-semillas de ciertas regiones producían más que los de la propia región. Se dio así comienzo posteriormente a la producción comercial de tubérculos-semillas limpios, una actividad altamente perfeccionada al presente en países desarrollados. A pesar de muchos esfuerzos, sin embargo, pocos son los programas de tubérculos-semillas exitosos y estables en los países en desarrollo debido principalmente a problemas técnicos, económicos e institucionales.

Hacia el siglo XVIII, mucho antes de que se conociera a lo que ahora denominamos virus, la degeneración de la papa fue atribuida al envejecimiento de los cultivares debido a su repetida propagación asexual. Debido a esta creencia se pensaba que la reproducción sexual era necesaria para rejuvenecer y restaurar el potencial de rendimiento de los cultivares. La causa del envejecimiento no era correcta, pero el método funcionó bien debido a que el PVX, PVY, y el PLRV -causas principales a nivel mundial de la degeneración de la papa y la mayoría de los otros virus que afectan a este cultivo- no se transmiten por la semilla de origen sexual (semilla botánica). Posteriormente, sin embargo, los nuevos cultivares se degeneraban nuevamente, necesitándose otra vez de la obtención de nuevos cultivares a través de la reproducción sexual de tal manera, de disponer de plántulas sanas que pudieran ser propagados en la forma más común, esto es, mediante tubérculos-semillas.

Aunque existen reportes sobre la posible utilización de la semilla botánica por los Incas, su uso como una alternativa para obtener semilla limpia para la producción directa de papa comenzó en China en 1959. El CIP ha dedicado gran atención a esta posibilidad. Se cree que en áreas donde los agricultores no disponen fácilmente de semilla limpia, la producción de papa a partir de semilla botánica es una alternativa prometedora a la de producir papa a partir de tubérculos-semillas. Sin embargo, las plántulas pueden fácilmente ser infectadas por virus. La información al presente indica mejores resultados cuando la semilla botánica se utiliza para la producción de tubérculos-semillas, en regiones donde la presión de virus no es alta.

Al presente la mejor, más económica, y más efectiva alternativa, para controlar la degeneración de la papa sería obtener semilla limpia mediante el mejoramiento por resistencia a virus, de esta manera evitar la reinfección por virus y retardar la subsiguiente degeneración de los tubérculos-semillas o tuberculillos-semillas (producidos a partir de semilla botánica). Aún en países donde se dispone de programas de tubérculos-semillas, la utilización de cultivares resistentes simplifica el trabajo a realizar, reduciendo los costos de producción y los volúmenes de semilla a producir, desde que el agricultor podría producir su propia semilla por varias generaciones.

Siendo la durabilidad de la resistencia una gran preocupación para una agricultura sostenible, el programa de mejoramiento para resistencia a virus debe involucrar, además de la definición de la estrategia, investigación para determinar los siguientes aspectos:

1. Fuentes de resistencia heredable.
2. Técnicas apropiadas de tamizado y métodos de evaluación.
3. Transferencia de la resistencia a materiales avanzados o cultivares adaptados.
4. Manejo de los genes de resistencia.

Este programa debe estar apoyado en un buen conocimiento de la variabilidad del patógeno y de las técnicas más apropiadas para su detección, así como de la epidemiología de la enfermedad.

Fuentes de Resistencia Heredable

Se pueden considerar varios niveles de resistencia basados en los siguientes índices de resistencia: síntomas visibles, detección de la infección, y rendimiento (Tabla 1).

Tabla 1. Niveles de resistencia y susceptibilidad.

Nivel	Índice		
	Síntoma	Detección de Infección	Reducción de Rendimiento
Resistencia			
Inmunidad General (NHI)	no	no	no
Inmunidad (I)	no	no	no
Hipersensibilidad (H) (Inmunidad de Campo)	necróticos locales	difícil	no
Resistencia Relativa (R) (Resistencia de Campo)	en porcentaje bajo	si o difícil	poca
Tolerancia (T)	no, suave o severo	si	no o poca
Susceptibilidad			
Genotipos no H (s)	mosaico	si	si
Genotipos H (h)	necrosis sistemática con o sin mosaico	si	severa

- Inmunidad General (non-host immunity) (NHI): No hay infección en todos los individuos de una especie. La mayoría de las especies son inmunes a la mayoría de los patógenos. Todavía no ha sido caracterizada o utilizada, pero no se esperan variantes que venzan esta resistencia (variantes virulentas), ni que su estabilidad sea dependiente de la temperatura (termosensitiva).
- Inmunidad (I): No hay infección en una planta o cultivar dentro de una especie. Normalmente cubre todo o un amplio espectro de variantes del virus y su efectividad no es termo-sensitiva. Generalmente es monogénica y dominante. Es el nivel de resistencia más alto y estable al presente.

- Hipersensibilidad (H): En todas las plantas del cultivar el virus es localizado en áreas que se muestran como síntomas necróticos localizados. Este tipo de reacción no se observa bajo condiciones del campo, se observa bajo condiciones de laboratorio después de una inoculación mecánica. Es por ello que a este nivel de resistencia se le conoce también como inmunidad de campo. Para distinguir la inmunidad de campo, de la inmunidad se requiere de una prueba de invernadero (prueba de injerto). En la prueba de injerto (desarrollada en un rango de 16-24°C) las plantas con este nivel de resistencia desarrollan una necrosis sistémica que empieza por los brotes apicales (top-necrosis).

Este nivel de resistencia es termo-sensitiva, es decir, que temperaturas superiores a 28°C afectan este nivel de resistencia. Se vence la hipersensibilidad después de la inoculación mecánica y la necrosis pasa de localizada a sistémica pudiendo estar acompañada de mosaico. Puede haber invasión sistémica asintomática.

Este nivel de resistencia es generalmente variante-específico y más confiable en el caso de PVX que en el de PVY. Se han reportado genes que gobiernan una hipersensibilidad no-específica (comprehensive-hypersensitivity), es decir, que abarca todo el espectro de variantes probadas, después de una inoculación mecánica.

Generalmente es monogénica dominante. En algunos pato-sistemas el gen de hipersensibilidad requiere estar acompañado de genes recesivos o poligenes para una resistencia efectiva.

- Resistencia relativa (R): Los síntomas son inducidos en un bajo porcentaje de las plantas de un cultivar. La infección puede o no ser fácilmente detectada. La reducción en los rendimientos depende del porcentaje de plantas infectadas y del efecto de la infección en la fisiología de la planta. Uno o varios mecanismos de resistencia contra el virus pueden estar involucrados como, resistencia a la infección, resistencia a la multiplicación, resistencia a la diseminación del virus dentro de la planta, así como mecanismos indirectos de resistencia al virus debido a que la resistencia en realidad es al vector: antibiosis y antixenosis.

La antibiosis consiste en factores de la planta que afectan la biología del vector, como por ejemplo, tasa de reproducción o supervivencia, desarrollo, movimiento. La antixenosis o no-preferencia es el rechazo de los vectores a ciertos hospedantes debido a ciertos factores de la planta como toxinas o repelentes volátiles producidas por las plantas, que resulta en plantas no atractivas para la oviposición o colonización.

La resistencia relativa es poligénica. Cada uno de los mecanismos de la resistencia relativa podría estar gobernado por uno o varios genes.

Un incremento en la resistencia relativa es de esperarse generalmente cuando ambos progenitores exhiben resistencia relativa. El cruce de un resistente con un susceptible reduce significativamente el nivel de resistencia relativa.

La resistencia es generalmente no específica para las variantes presentes en una determinada región, sin embargo, es inestable dependiendo su efectividad de la interacción con factores ambientales especialmente temperatura, vector, presión de inóculo, y otros patógenos.

- Tolerancia: Todas las plantas pueden ser infectadas y estar tan afectadas como las susceptibles, sin embargo, los rendimientos no disminuyen como en las susceptibles. Este nivel de resistencia no es apropiado en programas de semilla en los cuales el descarte (roguing) es un aspecto importante. Por otro lado constituyen fuente importante de inóculo para otros cultivares y de sinergismos degenerantes con otros virus.

Niveles de resistencia para PVX

Los niveles de resistencia reportados para PVX se indican en la Tabla 2.

Tabla 2. Niveles de resistencia a PVX.

Nivel	Gen de resistencia	Fuente	Variantes virulentas	Progenitores disponibles en el CIP
I	Rx	<i>ssp. tuberosum</i> (cv. Villaroela USDA 41956)	HB	Atlantic
	Rx _{adg}	<i>ssp. andigena</i> (CPC 1673)	HB	
	Rx _{adg}	<i>ssp. andigena</i> (CIP)	HB	V2, X, XY LT8, LT9
	Rx _{acl}	<i>S. acaule</i>	HB	V3, Bzura
	Rx _{vrn?}	<i>S. vernei</i>	?	María Huanca?
H	Nx _{tbr}	<i>ssp. tuberosum</i>	Gp2,4, HB	
	Nx _{tbr spi}	<i>S. sparsipilum</i>	Gp2,4	
	Nb _{tbr}	<i>ssp. tuberosum</i>	Gp3,4, HB	
	Nx _{chc}	<i>S. chacoense</i>	no	
	?	<i>S. microdontum</i>	no	
R	poligenes			DTO-28

Diversos cultivares de papa presentan resistencia relativa. Los europeos figuran en atlas y catálogos de cultivares registrados, como el de Stegeman y Schnick (43). Debe verificarse, sin embargo, que en el pedigre y/o pruebas de injerto, no se haya detectado un gen de hipersensibilidad que pudiera estar involucrado en la resistencia del cultivar. De especial interés son los cultivares Atlantic, Bzura, y Serrana, los que además de la inmunidad de los dos primeros y la alta hipersensibilidad de Serrana, al patotipo 1, presentan resistencia relativa al patotipo 2 (variante HB), especialmente a temperaturas por debajo de 22 °C.

Los genes dominantes de hipersensibilidad Nx_{tbr} y Nb_{tbr} , han sido introducidos en diversos cultivares europeos y estadounidenses, especialmente el Nx_{tbr} (40). El gen Nb_{tbr} ha sido detectado en diversos cultivares (25).

En 1933, Schultz y Raleigh (42) reportaron inmunidad a PVX en el clon USDA 41956. En un reporte preliminar, Mills (32) indicó que esta resistencia estaba controlada por un solo gen, lo cual fue confirmado por Cockerham (11). Este autor y otros observaron que en el clon USDA 41956 y sus derivados se pueden producir lesiones locales necróticas luego de la infección con PVX. Este tipo de comportamiento indica que el nivel de resistencia es más un caso de resistencia extrema que de inmunidad, es decir, un nivel de resistencia entre inmunidad e hipersensibilidad pero frecuentemente más próximo a inmunidad. Este gen dominante Rx (11) se origina en el cultivar chileno Villaroela (ssp. *tuberosum*) de donde pasó al USDA 41956 (40).

El gen Rx_{adg} originalmente detectado por Wiersema (46) en el clon CPC 1673 (ssp. *andigena*) resistente a los patotipos Ro-1 y Ro-4 de *Globodera rostochiensis*, fue reportado por Cockerham (11) en varios clones de la ssp. *andigena*.

En el CIP se dispone de diversos clones de la ssp. *andigena* con inmunidad a PVX que se asume es gobernada por el mismo gen Rx_{adg} . Tal es el caso de los clones V-2 (CIP 375395.1), LT-8 (CIP 379706.27) y LT-9 (CIP 379706.34) y de los cultivares peruanos Muru (CIP 379735.1) y Yana (CIP 379735.3).

Stelzner reportó, en 1950, la determinación en 1944 de inmunidad a PVX en 5. *acaule*. Esto fue confirmado por Ross en 1952 (37) y Cockerham en 1970 (11). Este gen Rx_{acl} ha sido introducido a cultivares europeos vía la retrocruza híbrida MPI 44.1016/10 (40). En el CIP se dispone de híbridos con el gen Rx_{acl} obtenidos del MPI 44.1016/10 vía MPI 55.957/24 y posteriormente vía el cultivar polaco Bzura (CIP 800953). El clon V-3 (CIP 378650.1) tiene también el gen Rx_{acl} derivado de germoplasma del Max Planck Institute (MPI)(62.47/20).

En el cultivar peruano María Huanca (CIP 279142.12) resistente a las razas P4A y P5A del nematodo del quiste (*Globodera pallida*) se ha detectado inmunidad a PVX. La inmunidad en este cultivar podría venir de la ssp. *andigena* o de *S. vernei*. Aparentemente, esta última especie podría estar transmitiendo inmunidad o resistencia extrema a PVX por cuanto la retrocruza híbrida con *S. vernei* 62-33-3 resistente a patotipos de *Globodera rostochiensis* y *Globodera pallida* acarrea un gen de resistencia extrema a PVX (40) o posiblemente inmunidad de acuerdo a pruebas preliminares por el autor. Ross (40) reporta que este gen de resistencia extrema a PVX ha sido introducido en diversos cultivares alemanes.

Aunque el patotipo HB vence la inmunidad de Rx, Rx_{adg} y Rx_{aci} (Tabla 3), afortunadamente este patotipo está localizado únicamente en Bolivia (18). Por lo tanto, la inmunidad a PVX constituye al presente la mejor opción para mejorar por resistencia a este virus.

Niveles de resistencia para PVY

Los niveles de resistencia reportados para PVY se indican en la Tabla 4.

Así como en el caso de PVX, diversos cultivares de papa presentan resistencia relativa a PVY. Los europeos figuran en diversos atlas y catálogos de cultivares registrados. Este nivel de resistencia se ha encontrado en intercruzas de *S. phureja*, *S. stenotomum* y *S. berthaultii*. A temperaturas entre 12 y 22 °C algunas selecciones de estas intercruzas muestran un nivel de resistencia considerablemente alto, simulando inmunidad (17).

En diversos cultivares se ha introducido genes de hipersensibilidad como el Nc_{ibr} efectivo contra variantes del grupo PVY^C, y genes Ny derivados de *S. chacoense*, *S. microdontum* y *S. demissum* (11, 25). Cuando la hipersensibilidad gobernada por estos genes es introducida en cultivares mejorados, ésta no se expresa tan efectivamente como en el caso de los genes de hipersensibilidad contra PVX, siendo su acción aparentemente modificada por genes menores.

La mejor opción para mejorar por resistencia a PVY lo constituye el uso de la inmunidad a PVY. La inmunidad a PVY en *S. stoloniferum* fue detectada por Stelzner en 1944 y reportada en 1950 (37). Ross (37) y Cockerham (11) determinaron que era gobernada por un gen dominante (Ry_{sto}). En *S. hougasii* el gen Ry_{hou} también controla inmunidad a PVY (11). Un tercer gen de inmunidad a PVY fue sugerido en la ssp. *andigena* por Muñoz *et al* (33) y confirmado en el CIP (19). Siguiendo la nomenclatura de Cockerham (11), el gen de inmunidad de la ssp. *andigena* debería denominarse Ry_{adg} na por cuanto este gen no gobierna inmunidad al PVA (15) mientras que Ry_{sto} y Ry_{hou}, si lo hacen.

Tabla 3. Grupos de variantes y patotipos de PVX.

Nivel ^a	Resistencia Gen	Patotipos de PVX				HB
		1				
		Grupos de variantes ^b				
1	2	3	4			
s	nx,nb,rx	+ ^c	+	+	+	+
H	Nx	-	+	-	+	+
	Nb	-	-	+	+	+
	Nx, Nb	-	-	-	+	+
I	Rx _{adg}	-	-	-	-	+
	Rx _{acl}	-	-	-	-	+
	Rx _{tub}	-	-	-	-	+

^as = susceptibilidad, H= hipersensibilidad, I= inmunidad

^b Basado en Cockerham (10) para los niveles s y H

^c+ = infección, -= no infección

Tabla 4. Niveles de Resistencia a PVY.

Nivel	Gen de resistencia	Fuente	Variante Virulentas	Progenitores Usados en el CIP
I	Ry _{adg na}	<i>ssp. andigena</i>	no	Y,YY,XY
	Ry _{hou}	<i>S. hougassi</i>	no	
	Ry _{sto}	<i>S. stoloniferum</i>	no	Bzura, V-3 I-1039,XY
H	Nc _{tbr}	<i>ssp. tuberosum</i>	PVY ^O PVY ^N	
	Ny _{chc}	<i>S. chacoense</i>	no	
		<i>S. microdontum</i>	no	
R	Ny _{dem} poligenes	<i>S. demissum</i>	no	
		intercruzas de <i>S. phureja</i>		
		<i>S. stenotomun</i>		
		<i>S. berthaultii</i>		

Genotipos con el gen $Ry_{adg\ na}$ se comportan como hipersensibles ante el PVA. La utilización del gen $Ry_{adg\ na}$ debe limitarse a áreas donde el PVA no ha sido introducido o pueda limitarse su diseminación. El gen Ry_{sto} ofrece entonces la perspectiva de una mayor durabilidad del germoplasma con resistencia a PVY, sin embargo, generalmente las fuentes del gen Ry_{sto} pueden utilizarse solamente como progenitores hembra debido a su esterilidad cuando se les utiliza como machos. Ross (40) indica que se ha encontrado un gen restaurador de la fertilidad. Diversos cultivares europeos llevan el gen Ry_{sto} . Estos vienen a ser una tercera a séptima retrocruza de la F1 con la ssp. *tuberosum* (40). En el proceso de transferencia del gen Ry_{sto} desde la fuente a material avanzado se ha observado que en algunos clones el nivel de resistencia de inmunidad desciende a un nivel de resistencia extrema pudiendo reportarse resultados contradictorios de acuerdo a las condiciones y variantes utilizadas, tal es el caso de los cultivares Pirola y Bárbara. Entre las explicaciones para este comportamiento estaría la manifestación de genes que modifican la expresión del gen Ry_{sto} en el nuevo germoplasma o que en el proceso de transferencia se pierde parte del gen Ry_{sto} o de un gen ligado a dicho gen.

En la colección de germoplasma del CIP para distribución (25) se dispone de progenitores tetraploides con los genes $Ry_{adg\ na}$ o Ry_{sto} en la condición simple, varios de ellos además con el gen Rx_{adg} o Rx_{acl} también en la condición simple. En el CIP se han extraído haploides con el gen $Ry_{adg\ na}$ y Ry_{sto} , y se viene desarrollando material avanzado tetraploide con dichos genes en la condición doble, triple y cuádruple (31). Tanto en el caso de los haploides como de los tetraploides hay progenitores con los genes de inmunidad a PVY acompañados con genes de inmunidad a PVX.

Niveles de resistencia a PLRV

No se ha reportado inmunidad al PLRV y pocos son los casos de hipersensibilidad que se han reportado (40). Así, entre las especies silvestres *S. raphanifolium* (2X) reacciona con hipersensibilidad al PLRV (39). Algunos cultivares europeos como Apta, Carla, Ida, Monza, Sedira y Kama (40) portan un tipo de hipersensibilidad sistémica en el floema. Para que sea útil esta hipersensibilidad aparentemente requiere estar combinada con un cierto nivel de resistencia relativa, tal como ha sido determinado en el cv. Apta. Butkiewicz, 1978, y Zadina y Novak, 1983, citados por Ross (40) encontraron que esta resistencia estaba gobernada por un gen dominante (N1) modificado por genes menores.

El nivel de resistencia más utilizado al presente en el caso del PLRV es la resistencia relativa que se ha mostrado por Baerecke, 1958, 1961, Dziewonska y Pochitonow, 1971, Hamann y Moller, 1979, citados por Ross (40), y Davidson (12), que es gobernada por genes menores.

La resistencia relativa es el resultado de la interacción entre diferentes componentes de resistencia en el hospedante, las variantes del virus, especies de áfidos vectores y el medio ambiente específico donde se evalúa el hospedante. Es de esperarse entonces la naturaleza poligénica de la resistencia relativa, el efecto génico aditivo y que ésta al presente sea generalmente de una efectividad local, más aún si en la selección de un cultivar tienen que considerarse aspectos agronómicos, rendimiento y calidad también gobernados poligénicamente.

Algunos de los componentes de la resistencia relativa a PLRV vienen siendo estudiados al presente (1,27).

Genotipos con resistencia a la infección no se infectan fácilmente con PLRV, sin embargo, una vez infectado el genotipo, el virus se multiplica pudiendo alcanzar altas concentraciones. Este nivel de resistencia se viene determinando en el CIP (26) bajo condiciones controladas usando 5, 25, y 50 áfidos virulíferos de *Myzus persicae* (cepa La Molina) por planta.. Bajo estas condiciones no se ha logrado infectar los cultivares Mariva (CIP 720025), Serrana (CIP 720087), Pentland Crown (CIP 800034), Edith y BR 63.15 (CIP 800942) (24). En el clon B-71.240.2 (CIP 720088) no se ha detectado resistencia a la infección. Sin embargo, en este clon hay resistencia a la multiplicación (27), otro componente de la resistencia relativa. En este clon la máxima concentración de PLRV alcanzada a los 4 meses de la infección bajo condiciones controladas fue 5 veces menor que la del clon susceptible DTO-28. Bajo condiciones de campo la concentración de PLRV en hojas de cv susceptible Maris Piper fue de 10-30 veces mayor que en el cv. Pentland Crown o el clon G 7445 (1), ambos resistentes (3). Esta menor concentración de virus está relacionada con una menor distribución de la infección por PLRV dentro del sistema floemático especialmente de las hojas (3). Pirola es otro cv reportado con resistencia a la multiplicación de PLRV, en este cultivar así como en Pentland Crown y G 7445 (1) normalmente los síntomas no son aparentes (2). Este componente de la resistencia relativa podría ser uno de los más importantes desde que los cultivares con este tipo de resistencia constituyen una pobre fuente de inoculo para los vectores (3) minimizando la dispersión de PLRV. Se ha reportado (4) la posibilidad de un control monogénico (dominante o recesivo) influenciado por genes menores, del carácter que restringe la multiplicación de PLRV en el clon G 7445 (1).

Resistencia a la multiplicación se ha reportado que ocurre también en varias especies diploides no tuberíferas como *S. brevidens* y *S. etuberosum* de la serie Etuberosa (29,35). La resistencia en *S. etuberosum* ha sido transferida a la especie tuberífera *S. acaule* vía un cruce puente con *S. pinnatisectum* y rescate de embriones (8). La segregación obtenida en progenies autofecundadas de los híbridos producidos por Chavez *et al* (8) sugieren que el control

de la resistencia a la multiplicación de PLRV es oligogénico.

Un tercer componente de la resistencia relativa es la resistencia a la diseminación del virus en la planta infectada. En este caso, luego de la infección, el virus se multiplica principalmente en las células acompañantes del floema tal como lo sugieren los resultados de Barker y Harrison (3). Luego un mecanismo de resistencia inhibe el movimiento del virus a los elementos del floema reduciéndose el transporte del virus en el floema y el número de tubérculos infectados, como sucede en el clon G 7445 (1).

Los otros dos componentes importantes de la resistencia relativa son mecanismos indirectos de resistencia al PLRV, debido a que la resistencia del hospedante es en realidad al vector, estos dos componentes son: la antibiosis y la antixenosis.

La antibiosis se refiere a factores de la planta que afectan la biología del vector. Como consecuencia, se reduce la población del vector, reduciéndose la diseminación del virus. En las especies *S. polyadenium*, *S. tarijense* y *S. berthaultii* ocurren pelos glandulares (tricomas) que descargan un exudado cuando los áfidos los dañan mecánicamente. En contacto con el oxígeno atmosférico, el exudado claro soluble en agua contenido en los pelos cambia a un material de color negro insoluble que impide el movimiento del áfido hasta dejarlo completamente inmobilizado (23). El áfido muere disminuyendo así la diseminación del virus (36).

La antixenosis o no-preferencia se debe a factores en la planta como la producción de sustancias volátiles repelentes. Las hojas de *S. berthaultii* PI 265858 repelen al áfido *M. persicae* debido probablemente a que los pelos glandulares despiden una sustancia similar a la feromona alarma de los áfidos (24) dispersando a los áfidos y disminuyendo la diseminación del virus. Bajo condiciones controladas se ha observado que los áfidos virulíferos colocados en el cultivar Tomasa Condemayta se retiran de la planta (27). Se ha observado que tanto *Macrosiphum euphorbiae* como *M. persicae*, prueban repetidas veces en las células superficiales de las hojas (27), lo cual explica la transmisión de PVY, pero tienen dificultad en que sus estiletes lleguen al floema desalentando su alimentación en este cultivar e impidiéndose la transmisión de PLRV.

Tanto el tamaño de las gotas exudadas como la densidad de los pelos glandulares en *S. berthaultii* están aparentemente bajo control de varios genes. Los fenotipos parentales se recuperan en la F2 y retrocruzas, debiéndose manejar como un carácter heredado cuantitativamente al nivel diploide. Al nivel tetraploide los caracteres anteriores no tuvieron correlación con la resistencia a *M. persicae* siendo la expresión de la resistencia probablemente el resultado de la interacción de diversos caracteres físicos y químicos de los pelos glandulares, debiendo tratarse su herencia como un carácter cuantitativo complejo

debido a que cada uno de los factores que contribuyen a la herencia está controlado por varios genes (30).

En los clones V-3 y B-71.240.2 y los cultivares Bzura, Tomasa Condemayta, Pentland Crown y Serrana, resistentes a PLRV, se ha observado una baja infección por PLRV asociada a una baja colonización por áfidos (20) bajo condiciones de campo. Estos mostraron hasta 16 áfidos por planta mientras que los que presentaban entre 30 y 83 áfidos por planta, en su mayoría eran los más infectados por PLRV.

La resistencia relativa de los cultivares actuales se remonta en muchos casos a híbridos de *S. demissum* con la ssp. *andigena* y ssp. *tuberosum* (40). También se encuentra resistencia a PLRV en retrocruzadas híbridas de *S. acaule* x ssp. *tuberosum* tales como MPI 44.1016/10 (40), ej. los cultivares Bzura y Serrana. Los cultivares europeos con resistencia a PLRV, figuran en diversos atlas y catálogos de cultivares registrados (43).

La infección previa con otros virus como el PVX y PVY reducen el grado de resistencia a la infección de los cultivares Mariva y Pentland Crown (28) y el de resistencia a la multiplicación del clon B-71.240.2 (27). Esto implica la conveniencia de mejorar para resistencia a PLRV en germoplasma que ya posea resistencia a PVX y PVY.

Niveles de resistencia al virus A de la papa (PVA)

La mayoría de cultivares europeos llevan el gen Na_{ubr} que gobierna hipersensibilidad. La mejor opción al presente lo constituye la utilización del gen Ry_{sto} que gobierna inmunidad al PVA y al PVY.

Niveles de resistencia al virus S de la papa

En la ssp. *andigena* PI 258907 se ha detectado hipersensibilidad gobernada por un gen dominante (Ns) (40).

Niveles de resistencia al virus M de la papa (PVM)

Los cultivares europeos difieren en el grado de resistencia relativa al PVM (43). En *S. megistacrolobum* EBS 1787 se ha detectado el gen dominante para hipersensibilidad Nm (40). Ross (40) sugiere como más ventajoso usar el gen dominante Gm proveniente de *S. gourlayi* (45) que en cooperación con otro gen confieren resistencia relativa (45) a los híbridos con la ssp. *tuberosum*.

Técnicas de Tamizado y Métodos de Evaluación

Tamizado para inmunidad a PVX y PVY

En un programa de mejoramiento para resistencia a PVX y PVY es generalmente necesario evaluar un gran número de progenies, siendo deseable reducir el tamaño de la población eliminando lo más temprano posible, el máximo número de progenies susceptibles. La técnica de la inoculación masal con pistola asperjadora (IMPA) en plántulas, sirve para este propósito. El nivel de inmunidad a PVX y PVY y su herencia monogénica facilita el proceso de selección de las progenies resistentes.

Con la técnica IMPA se infectan más del 96% de las plántulas (13), de las cuales más del 88% muestran síntomas. Se seleccionan sólo las plántulas que no muestran síntomas. Esta técnica ha sido descrita en detalle (16).

Luego de la inoculación con PVX y PVY las plántulas resistentes pueden ser tamizadas bajo condiciones de invernadero o evaluadas en campo para resistencia a otros patógenos como PLRV, *Phytophthora infestans*, *Alternaria solani*, y nematodos.

Chequeo de la inmunidad

Luego de dos a tres evaluaciones agronómicas, debe verificarse la inmunidad de los clones avanzados antes de continuar con su evaluación agronómica o su utilización como progenitores. La inmunidad se verifica mediante la prueba de injerto. En esta prueba las plantas de papa utilizadas como patrón y crecidas en invernadero de aproximadamente 30 cm de altura se injertan con una pluma de *Nicotiana occidentalis* infectada con PVY^O o con una pluma de *Nicotiana glutinosa* o papa infectada con PVX. A los 30 días del injerto se comprueba de que las plantas de papa no estén infectadas, mediante ELISA y retroinoculaciones a *N. occidentalis* en el caso de PVY y *N. glutinosa* en el caso de PVX (14).

Se debe tomar en cuenta de que si el genotipo seleccionado está infectado con PLRV, no se podrá determinar si el genotipo es hipersensible o inmune a PVX o PVY, por cuanto la infección previa por PLRV suprime la reacción de hipersensibilidad (28).

Evaluación de resistencia a PLRV

El tamizado en plántulas para resistencia relativa a PLRV (9) aparentemente es útil para determinar la habilidad combinatoria general y específica de los progenitores, más no para seleccionar genotipos con alta resistencia relativa a PLRV (7). Por otro lado, posiblemente sólo detecta aspectos parciales de la resistencia relativa.

Dado que al presente la mejor opción para mejorar por resistencia al PLRV, es la de incrementar los niveles de resistencia relativa, la evaluación de campo, de las poblaciones segregantes y genotipos seleccionados, resulta todavía como la mejor alternativa.

Para la evaluación de campo, el material segregante (familias de tubérculos o de plántulas) se multiplica en una zona o época de baja presión de virus y vectores para una primera selección agronómica. Los fenotipos selectos se cosechan y en la siguiente campaña se siembran en una zona y época que favorezca una población media de áfidos, que facilite la diseminación de PLRV, es decir, que un mínimo del 50% de los controles susceptibles se infecten (20). Un total de 250 áfidos alados por mes por trampa amarilla de agua de 40x30x6 cm, en el mes pico de la población de áfidos, es apropiada (20). Si se sobrepasa este nivel en el mes pico, se podría bajar la población luego de la evaluación de áfidos colonizantes. Se debe tener presente que la magnitud de la población de vectores será importante para la eficiencia de la evaluación. Si la población es muy alta se dificultará la diferenciación entre resistencia moderada y susceptibilidad, y si es baja entre la moderada y alta resistencia. Según la disponibilidad de la fuente de inóculo (cultivares infectados con PLRV) por cada tres tubérculos por clon seleccionado se planta un tubérculo infectado (infectador) o cada dos surcos de material en evaluación se planta un surco de infectores.

Como parte de los clones a evaluar se incluyen cultivares de la zona como controles susceptibles y resistentes repetidos apropiadamente. Durante el cultivo se toma lectura de síntomas por planta. Se cosechan los clones previamente seleccionados agronómicamente y que no muestren síntomas de PLRV en por lo menos dos de las tres plantas. Se cuentan y pesan los tubérculos por planta, por clon seleccionado.

Los clones seleccionados se exponen por una segunda vez a razón de un mínimo de seis tubérculos por cada una de dos repeticiones. Cada dos surcos de material en evaluación, se planta uno de infectores. Se incluyen asimismo cultivares de la zona sanos como controles susceptibles y resistentes repetidos apropiadamente. Se cosechan las cuatro plantas centrales de aquellos clones seleccionados agronómicamente y que no muestran síntomas, por lo menos en cuatro o cinco de las seis plantas, de acuerdo al grado de resistencia relativa deseado. Se toma el número y peso de tubérculos por planta y por clon.

En la primera y segunda evaluación se hace ELISA solamente en los controles susceptibles antes de la madurez, para determinar el nivel de incidencia de PLRV.

Un tubérculo por planta a cosechar de cada uno de los clones seleccionados en la segunda evaluación se reservan para hacerles una ELISA en plantas provenientes de dichos

tubérculos y crecidas en invernadero.

Durante la primera y segunda evaluación se registra la población de áfidos visitantes mediante el empleo de trampas amarillas de agua (20). La evaluación de áfidos colonizantes (20) al menos en cuatro plantas por clon, también es conveniente en la segunda evaluación.

Una tercera evaluación de 12 tubérculos por clon por cada una de tres a cuatro repeticiones, permitirá una mejor apreciación de la resistencia relativa y potencial agronómico. Cada dos surcos de clones seleccionados irá un surco de infectores en caso de considerarse necesario. Antes de la madurez se hará una ELISA en un mínimo de 25% de las plantas por clon. También se evaluará la población de áfidos colonizantes en el 25% de las plantas por clon. De especial interés serán aquellos clones con menos de 20 áfidos por planta (20), en las tres evaluaciones.

Luego de la tercera evaluación para resistencia relativa a PLRV, los clones promisorios, aquellos con menos de 30% de infección por PLRV (21), pueden ser utilizados como progenitores y/o pasar a una red de ensayos de variedades comerciales.

Todas las evaluaciones mencionadas anteriormente permiten determinar los probables componentes de la resistencia relativa que están involucrados en el grado de la resistencia que se está seleccionando, así como las perspectivas de su estabilidad.

Transferencia de la Resistencia a Materiales Avanzados o Cultivares Adaptados

En el Centro Internacional de la Papa, la estrategia al presente (30) es la de primero mejorar para inmunidad a PVX y PVY y como un segundo paso combinar estas inmunidades con resistencia relativa al PLRV.

Para facilitar la combinación de estas resistencias se han desarrollado clones con el gen de inmunidad a PVY en condición doble YYyy (denominados YY) los cuales al cruzarse con un susceptible a PVY (yyyy) pero resistente al PLRV daría 83% de la progenie inmune a PVY y segregantes para resistencia a PLRV. En este tipo de progenies se podría obviar el tamizado para PVY, sin embargo, sería conveniente realizarlo a fin de evitar futuras confusiones de genotipos resistentes a PLRV pero no inmunes a PVY.

También se han desarrollado progenitores con inmunidad a PVX y PVY en la condición génica simple denominados XY (XxxxYyyy). Al presente progenitores XY como LT-9 susceptible a PLRV y áfidos (20) cruzados con progenitores resistentes a PLRV como Serrana resistente a la infección y a áfidos (20) o Bzura con moderada resistencia a la

infección y a áfidos (20) han dado progenies promisorias por su alta resistencia a PLRV y altos rendimientos además de su inmunidad a PVX y PVY (30). Esto indica que la combinación de resistencia a la infección y resistencia a áfidos es promisoria para obtener prontamente un alto nivel de resistencia a PLRV. Hay evidencias de que al menos en especies silvestres la resistencia a *Myzus persicae* es estable (34). Sin embargo, para ciertos componentes de la resistencia relativa al cruzar un resistente por un susceptible a PLRV el grado de resistencia a PLRV se reduce en las progenies (40); se necesitarán entonces cruza (LRxXY) x (LRxXY) o retrocruza LR x (LRxXY) para incrementar el grado de resistencia a PLRV (31). Se necesitará tamizar para PVX y PVY antes de la evaluación para PLRV.

Al presente se viene incrementando la dosis de los genes de inmunidad en los progenitores XY de tal forma de poder disponer de progenitores con los genes de inmunidad para X e Y en la condición doble (XXxxYYyy).

Aparte del mejoramiento clásico al nivel tetraploide, al presente la disponibilidad de haploides con los genes de inmunidad a PVX y PVY en el CIP y con resistencia a PLRV (44), permite la posibilidad de mejoramiento a nivel diploide simplificándose los patrones de segregación genética y la incorporación a corto plazo de la resistencia a virus en cultivares ya adaptados agrónomicamente a condiciones agroecológicas específicas.

Por otro lado, la ingeniería genética abre las posibilidades en el futuro para la transferencia de los genes de inmunidad a PVX y PVY a cultivares ya seleccionados por otros caracteres así como la incorporación de la cubierta proteica del PLRV y resistencia a los áfidos como las mejores alternativas entre otras, para utilizar la nueva biotecnología en el mejoramiento de cultivares actuales para resistencia a virus.

Manejo de los Genes de Resistencia

El mejoramiento para resistencia a virus como a otras enfermedades es una actividad en constante evolución, debiendo preverse los cambios a realizar en la estrategia de mejoramiento mediante un constante monitoreo de la resistencia. Algunos genes de resistencia proveen una resistencia más estable que otros. Las evidencias indican estabilidad de la inmunidad a PVX y PVY (5,6, 20, 21) mientras la raza HB no se disemine de donde está localizado ni se introduzca el gen Ry_{dga} en áreas donde este virus puede ser epidemiológicamente importante.

La inmunidad a PVX y PVY aparte de las perspectivas de su estabilidad garantiza la estabilidad de la resistencia a PLRV, resultando clones o cultivares con un bajo grado de degeneración que permite a los agricultores usar su propia semilla por varias generaciones (21).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barker, H. 1987. Multiple component of the resistance of potatoes to potato leafroll virus. *Ann. Appl. Biol.* 111:641-648.
2. Barker, H.; Harrison, B.D. 1985. Restricted multiplication of potato leafroll virus in resistant potato genotypes. *Ann. Appl. Biol.* 107:205-212.
3. Barker, H.; Harrison, B.D. 1986. Restricted distribution of potato leafroll virus antigen in resistant potato genotypes and its effect on transmission of the virus by aphids. *Ann. Appl. Biol.* 109:595-604.
4. Barker, H.; Solomon, R.M. 1990. Evidence of simple genetic control in potato of ability to restrict potato leafroll virus concentration in leaves. *Theor. Appl. Genet.* 80:188-192.
5. Barrera, C.E. 1988. Seguimiento virológico de clones de papa con genes para resistencia a PVX y PVY expuestos bajo condiciones de campo. Tesis M. Sc. Universidad Nacional Agraria, La Molina, Lima, Perú. 90 p.
6. Barrera, C.E.; Fernández-Northcote, E. N. 1986. Monitoring of potato clones with resistance to potato virus X (PVX) and potato virus Y (PVY) exposed under field conditions in Perú. (Abstr.) *Phytopathology* 76:1122.
7. Butkiewicz, H.; Dziejowska, M. A. 1982. Selection of first year potato seedlings for resistance to potato leafroll virus. *Potato Res.* 25:265-268.
8. Chavez, R.; Brown, C. R.; Iwanaga, M. 1988. Transfer of resistance to PLRV titer buildup from *Solanum tuberosum* to a tuber-bearing *Solanum* gene pool. *Theor. Appl. Genet.* 76:129-135.
9. Chuquillanqui, C.; Jones, R.A.C. 1980. A rapid technique for assessing the resistance of families of potato seedlings to potato leafroll virus. *Potato Res.* 23:121-128.
10. Cokerham, G. 1955. Strains of potato virus X. *In: Proc. of the Second Conference on Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen, 1954.* p. 82-92.
11. Cokerham, G. 1970. Genetical studies on resistance to potato viruses X and Y. *Heredity* 25:309-348.
12. Davidson, T.M.W. 1973. Assessing resistance to leafroll in potato seedlings. *Potato Res.* 16:99-108.
13. Dávila, R.; Fernández-Northcote, E.N. 1984. Factores que afectan el tamizado de plántulas de papa para resistencia al virus Y de la papa con la técnica de inoculación masal con pistola asperjadora. (Abstr.) *Fitopatología* 19:43-44.

14. Fernández-Northcote, E.N. 1983. Reaction of potato clones immune to potato virus Y, or potato viruses A, X, and to a wide range of potato virus Y strains from the Andean region. (Abstr.) *Phytopathology* 73:788.
15. Fernández-Northcote, E.N. 1990. Variability of PVX and PVY its relationship to genetic resistance. *In: Control of virus and virus-like diseases of potato and sweet potato. Report of the III Planning Conference. International Potato Center, Lima-Perú, 1989. p. 131-139.*
16. Fernández-Northcote, E. N. 1991. Potato seedling screening for resistance to potato viruses X and Y by the mass inoculation technique with spray gun. CIP Research Guide 37. International Potato Center. Lima, Perú. 12 p.
17. Fernández-Northcote, E. N.; Brown, C. R. 1981. Resistance in diploid *Solanum phureja*, *S. stenotomum*, and *S. berthaultii* intercrosses to potato virus Y. (Abstr.) *Phytopathology* 81:873.
18. Fernández-Northcote, E.N.; Lizarraga, Ch. 1991. Distribución geográfica de serolipos del virus X de la papa. *Fitopatología* 26:13-18.
19. Gálvez, R.; Mendoza, H.A.; Fernández-Northcote, E.N. 1990. Herencia de la inmunidad al virus Y de la papa (PVY) en clones derivados de *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*. *Fitopatología* 27:8-15.
20. García, E. 1989. Estabilidad de la resistencia a PVX, PVY y PLRV en clones de papa expuestos en campo y áfidos asociados con la transmisión. Tesis M. Sc. Univ. Nacional Agraria, La Molina, Perú 103 p.
21. García, E.; Fernández-Northcote, E.N. 1990. Effect of resistance to viruses in the delay of potato degeneration. *In: XI Triennial Conference of the European Association for Potato Research, Edinburgh 1990. Abstracts of Papers. p 536-537.*
22. Gibson, R.W. 1971. Glandular hairs providing resistance to aphids in certain wild potato species. *Ann. Appl. Biol.* 68:113-119.
23. Gibson, R.W.; Pickett, J.A. 1983. Wild potato repels aphids by release of aphid alarm pheromone. *Nature* 302:608-609.
24. International Potato Center. 1984. *In: Annual Report, International Potato Center, Lima-Perú. p. 64-65.*
25. International Potato Center. 1991. Pathogen-tested potato cultivars for distribution.

26. Jayasinghe, U. 1990. Resistencia a los virus de la papa con especial énfasis en el virus del enrollamiento de las hojas (PLRV). En: Avances en el mejoramiento genético de la papa en los países del cono sur. Eds. O.A. Hidalgo y H. Rincón. Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú p. 121-131.
27. Jayasinghe, U. 1990. Variability and resistance to potato leafroll virus (PLRV). *In: Control of virus-like diseases of potato and sweet potato. Report of the III Planning Conference. International Potato Center, Lima, 1989. p. 141-153.*
28. Jayasinghe, U.; Chuquillanqui, C; Salazar, L. F. 1989. Modified expression of virus resistance in potato mixed virus infections. *Am. Potato J.* 66:137-144.
29. Jones, R.A.C. 1979. Resistance to potato leafroll virus in *Solanum brevidens*. *Potato Res.* 22:149-152.
30. Mehlenbacher, S.A.; Plaisted, R.L.; Tingey, W.M. 1983. Inheritance of glandular trichomes in crosses with *Solanum berthaultii*. *Am. Potato J.* 60:699-708.
31. Mendoza, H.; Fernández-Northcote, E.N.; Jayasinghe, U.; Salazar L.F.; Gálvez, R.; Chuquillanqui, C. 1990. Breeding for resistance to potato viruses Y, X, and Leafroll: Research strategy, selection procedures, and experimental results. *In: Control of virus and virus-like diseases of potato and sweet potato. Report of the III Planning Conference. International Potato Center, Lima, Perú 1989, p. 155-171.*
32. Mills, W.R. 1965. Inheritance of immunity to potato virus X. *Am. Potato. J.* 42:294-295.
33. Muñoz, F.J.; Plaisted, R.L.; Thurston, H.D. 1975. Resistance to potato virus Y in *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*. *Am. Potato J.* 52:107-115.
34. Radcliffe, E.B.; Tingey, W.M.; Gibson, R.W.; Valencia, L.; Raman, K.V. 1987. Stability of green peach aphid resistance in wild potato species. *Am. Potato. J.* 64:453-454.
35. Rizvi, S.A.H. 1983. Extreme resistance to potato leafroll virus (PLRV) in seedlings of *Solanum etuberosum* x *5. pinatisectum* (EP) with 4X chromosomes. *In: Research for the potato in the year 2000. W.J. Hooker (ed). International Potato Center, 1982. Lima, Perú, p. 162.*
36. Rizvi, S.A.H.; Raman, K.V. 1983. Effect of glandular trichomes on the spread of potato virus Y (PVY) and potato leafroll virus (PLRV) in the field. *In: Research for the potato in the year 2000. W. J. Hooker (ed). International Potato Center, 1982, Lima, Perú, p. 162-163.*
37. Ross, H. 1952. Studies on mosaic resistance in the potato. *In: Proc. Conf. Potato Virus Dis., Ageningen-Lisse, 1951. p. 40-47.*
38. Ross, H. 1958. Inheritance of extreme resistance to virus Y in *Solanum stoloniferum* and its hybrids with *Solanum tuberosum*. *In: Proc. Third Conf. Potato Virus Dis., Lisse-*

Wageningen, 1957. p. 204-211.

39. Ross, H. 1966. The use of wild *Solanum* species in German potato breeding of the past and today. *Am. Potato. J.* 43:63-80.
40. Ross, H. 1986. *Potato Breeding-Problems and Perspectives.* Verlaug Paul Parey, Berlin and Hamburg, 132 p.
41. Salazar, L.F. 1990. Main virus diseases of potato. *In: Control of virus and virus-like diseases of potato and sweet potato. Report of the III Planning Conference. International Potato Center, Lima.* Perú, 1989, p. 9-12.
42. Schultz, E.S.; Raleigh, W.P. 1933. Resistance of potato lo latent mosaic. (Abstr.) *Phytopathology:* 23:32.
43. Stegeman, H.; Schnick, D. 1985. *Indice 1985 de variedades europeas de papa. Mitteilungen aus der Biologischem Bundesanstalt für Land-und Forsrwirtschaft, Berlin-Dahlem, Heft 227,* 128 p.
44. Swiezynski, K.M.; Dziejowska, M.A.; Ostrowska, K. 1989. Resistance to the potato leafroll virus (PLRV) in diploid potatoes. *Plant Breeding* 103: 221-227.
45. Was, M.; Dziejowska, M.A. 1984. Reaction to PVM and PVS in potato clones with the genes Gm and Ns. *In: 9th Triennial Conference of the European Association for Potato Research, Interlaken. Abstracts,* p. 245-246.
46. Wiersema, H.T. 1961. Methods and means used in breeding potatoes with extreme resistance to virus X and Y. *In: Proc. 4th Conf. Pot. Vir. Dis. Braunschweig,* 1960. p. 30-36.