

**Determinar la presencia de
geminivirus y fitoplasmas en tomate en
Guatemala, El Salvador, Honduras y Nicaragua**

Tania Yaoska Toruño Calero

ZAMORANO
Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria
Noviembre, 2005

ZAMORANO
Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria

**Determinar la presencia de
geminivirus y fitoplasmas en tomate en
Guatemala, El Salvador, Honduras y Nicaragua**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniera Agrónoma en el Grado
Académico en Licenciatura

presentado por:

Tania Yaoska Toruño Calero

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2005

La autora concede a Zamorano permiso
para reproducir y distribuir copias de este
trabajo para fines educativos. Para otras personas
físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor.

Tania Yaoska Toruño Calero

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2005

Determinar la presencia de geminivirus y fitoplasmas en tomate en Guatemala, El Salvador, Honduras y Nicaragua

Presentado por:

Tania Yaoska Toruño Calero
Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria

Aprobado por:

María Mercedes Roca, Ph.D.
Asesora principal

Abelino Pitty, Ph.D.
Director Interino Carrera de Ciencia
y Producción Agropecuaria

Alfredo Rueda, Ph.D.
Asesor

Abelino Pitty, Ph.D.
Coordinador área temática

George, Pilz, Ph.D.
Decano Académico Interino

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.
Rector

ZAMORANO
Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria
2005

DEDICATORIA

A Dios y la Virgencita por darme la fuerza y enseñarme el camino para poder realizar este trabajo.

A mis padres por su apoyo incondicional, por su guía en los momentos difíciles y por encomendarme a Dios.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Roca por su paciencia, apoyo, consejos y por las tantas horas que le dedicó a la corrección de esta tesis.

Al Dr. Rueda por su guía y apoyo para poder realizar los viajes de recolección de las muestras.

Al personal de PROMIPAC- Nicaragua y El Salvador por apoyarme en las visitas a los respectivos países para la recolección de las muestras.

A los técnicos de Syngenta Guatemala, Frintac CDA Honduras y Bayer Nicaragua por el interés en esta investigación y por su apoyo.

A Melissa Castillo por su guía y ayuda a pesar de la distancia, y por siempre estar pendiente del trabajo del laboratorio.

A Jorge Venegas por su gran ayuda en los momentos de incertidumbre durante la investigación.

Al grupo especial del laboratorio Diana, Jozer, Carolina, Johana, Tamara y Julia por los momentos compartidos en nuestro querido laboratorio.

A Ilka Gómez por su amistad sincera e incondicional, por estos 4 años que compartimos juntas el día a día.

A Cristhian Castro Panezzo por su amor único y especial, por ser mi fuerza para luchar cada día y por estar siempre a mi lado.

A Grace Morrison y José María Jómez por su amistad sincera, sus consejos y por la confianza brindada.

A todos los grandes amigos que me acompañaron y me brindaron su amistad sincera en estos 4 lindos años.

RESUMEN

Toruño, Tania. 2005. Determinar la presencia de geminivirus y fitoplasmas en tomate en Guatemala, El Salvador, Honduras y Nicaragua. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 83 p.

Las infecciones virales en cultivos hortícolas en Centro América son el principal problema en la producción. En las últimas dos décadas se ha abusado de los agroquímicos para controlar a los insectos vectores, creando problemas de resistencia, contaminación ambiental y daños a la salud humana. Asimismo, en los últimos años, el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) ha sido afectado por una nueva enfermedad denominada “punta morada de la papa”, causada por un fitoplasma que disminuye la calidad de los tubérculos. Desde el 2000 se han promovido campañas en México y Centro América para hacer aplicaciones de antibióticos en cultivos de tomate, ya que los daños se atribuyen a fitoplasmas (susceptibles a antibióticos), que no han podido ser controlados por los insecticidas tradicionales utilizados para manejar infecciones virales. Estas recomendaciones se han hecho sin ningún análisis previo para establecer la etiología de estas enfermedades. El objetivo de este estudio fue establecer si los daños observados en zonas productoras de tomate (*Lycopersicon esculentum*) en Guatemala, El Salvador, Honduras y Nicaragua, donde se ha recomendado el uso de antibióticos agrícolas, es causado por geminivirus o por fitoplasmas. Se realizó una evaluación de campo, seguida por la recolección de muestras representativas y un análisis molecular en el laboratorio, para detectar la presencia de geminivirus o fitoplasmas. El análisis molecular se realizó utilizando la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) utilizando primers universales para fitoplasmas (P1, P7), y los primers para geminivirus (514, 1048). La sintomatología observada en plantaciones de tomate en las zonas muestreadas de los 4 países coincidió con infecciones virales, incluyendo aquellas causadas por geminivirus y no con los síntomas clásicos causados por fitoplasmas como el “stolbur” reportado en tomate en Europa, pero no en México o Centro América. De un total de 112 muestras recolectadas, el 64% resultaron positivas a geminivirus (94% Guatemala, 83% Honduras, 59% El Salvador y 26% Nicaragua) y en ninguna se detectó la presencia de fitoplasmas. El 36% de los otros daños pueden atribuirse a otros virus y/o a factores abióticos. El estudio concluye que el uso de antibióticos agrícolas no es justificado en las zonas del estudio ya que no se detectó la presencia de fitoplasmas.

Palabras clave: Infecciones virales, *Lycopersicon esculentum*, punta morada.

CONTENIDO

| | |
|--|-----------|
| Portada..... | i |
| Portadilla..... | ii |
| Autoría..... | iii |
| Página de firmas | iv |
| Dedicatoria | v |
| Agradecimientos..... | vi |
| Resumen | vii |
| Contenido | viii |
| Índice de cuadros | xi |
| Índice de figuras | xii |
| Índice de anexos | xiii |
| | |
| 1. Introducción..... | 1 |
| 1.1 Objetivos..... | 3 |
| 1.1.1 Objetivo general | 3 |
| 1.1.2 Objetivos específicos..... | 4 |
| | |
| 2. Revisión de literatura | 5 |
| 2.1 Virus..... | 7 |
| 2.1.1 Descripción de los virus en general..... | 7 |
| 2.1.2 Sintomatología de geminivirus..... | 8 |
| 2.1.3 Transmisión de geminivirus | 8 |
| 2.1.4 Manejo de geminivirus en tomate | 8 |
| 2.1.5 Geminivirus más importantes reportados en tomate y chile en el Norte y Centro América..... | 9 |
| 2.2 Fitoplasmas | 11 |
| 2.2.1 Descripción de los fitoplasmas..... | 11 |
| 2.2.2 Sintomatología de las enfermedades causadas por fitoplasmas en cultivos hortícolas..... | 12 |
| 2.2.3 Transmisión de los fitoplasmas | 12 |
| 2.2.4 Manejo de los fitoplasmas | 12 |
| 2.2.5 Enfermedades hortícolas transmitidas por fitoplasmas | 13 |
| 2.2.5.1 Punta morada de la papa..... | 13 |
| 2.2.5.1.1 Síntomas de la punta morada en la papa | 13 |
| 2.2.5.1.2 Vector del fitoplasma que ocasiona punta morada en papa | 14 |
| 2.2.5.2 Stolbur en tomate | 15 |
| 2.3 Bacterias | 15 |
| 2.3.1 Peca bacteriana: organismo causal | 15 |
| 2.3.2 Sintomatología de peca bacteriana en el cultivo de tomate..... | 15 |
| 2.3.3 Epidemiología de la enfermedad peca bacteriana en tomate..... | 16 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 2.3.3.1 | Supervivencia | 16 |
| 2.3.3.2 | Diseminación..... | 17 |
| 2.3.3.3 | Condiciones predisponentes | 17 |
| 2.3.4 | Hospederos de <i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>tomato</i> | 17 |
| 2.3.5 | Manejo de peca bacteriana en tomate..... | 17 |
| 2.4 | Uso de antibióticos agrícolas y su efecto en la salud humana y animal y en el ambiente..... | 17 |
| 3. | Materiales y métodos..... | 19 |
| 3.1 | Muestreo | 19 |
| 3.1.1 | Lugares muestreados | 19 |
| 3.1.2 | Recolección e identificación de las muestras | 21 |
| 3.1.2.1 | Honduras..... | 22 |
| 3.1.2.2 | El Salvador | 22 |
| 3.1.2.3 | Nicaragua..... | 22 |
| 3.2 | Procesamiento de las muestras en el Laboratorio..... | 23 |
| 3.2.1 | Método de extracción y purificación de ADN | 23 |
| 3.2.2 | Diagnóstico de virus de ADN: geminivirus | 23 |
| 3.2.2.1 | Método de amplificación de ADN | 23 |
| 3.2.2.2 | Método de electroforesis | 24 |
| 3.2.3 | Diagnóstico de fitoplasma | 24 |
| 3.2.3.1 | Método de amplificación de fitoplasma | 24 |
| 3.2.3.2 | Método de electroforesis | 25 |
| 4. | Resultados y Discusión | 26 |
| 4.1 | Geminivirus | 26 |
| 4.2 | Fitoplasma | 27 |
| 5. | Conclusiones..... | 28 |
| 6. | Recomendaciones..... | 29 |
| 7. | Bibliografía..... | 30 |
| 8. | Anexos..... | 36 |

ÍNDICE DE CUADROS

| Cuadros | Página |
|---|--------|
| 1. Virus reportados en Honduras hasta el 2005 .. | 6 |
| 2. Número de muestras de tomate colectadas por país en el año 2005 .. | 20 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura | Página |
|--|--------|
| 1. Uso excesivo de agroquímicos en zonas productoras de tomate y chile en Honduras | 2 |
| 2. Pruebas de laboratorio utilizadas para la detección de geminivirus | 7 |
| 3. Microfotografía (microscopio electrónico) de partículas virales de un geminivirus | 8 |
| 4. Síntomas de geminivirus en tomate y chile | 10 |
| 5. Micrografía electrónica de fitoplasmas encontrado en el floema..... | 12 |
| 6. Micrografía del tejido del floema de gladiolo infectado por fitoplasmas | 12 |
| 7. Síntomas de punta morada en papa | 14 |
| 8. Ciclo de vida de <i>Paratrioza cockerelli</i> | 14 |
| 9. Síntomas causados por Stolbur en tomate | 15 |
| 10. Síntomas de peca bacteriana ocasionado por <i>P. syringae</i> | 16 |
| 11. Peca bacteriana en el tomate..... | 16 |
| 12. Infección por peca bacteriana..... | 16 |
| 13. Zonas muestreadas en El Salvador..... | 20 |
| 14. Zonas muestreadas en Honduras..... | 21 |
| 15. Zonas muestreadas en Nicaragua..... | 21 |
| 16. Síntomas de virus y punta morada observadas en Honduras | 22 |
| 17. Síntomas de virus y punta morada observadas en El Salvador | 22 |
| 18. Síntomas de virus y punta morada observadas en Nicaragua | 22 |
| 19. Muestras de tomate positivas a geminivirus según el país | 26 |

20. Gel de agarosa al 0.9% con los primers P1/P7 y 514/1048 con producto de PCR para fitoplasma y geminivirus respectivamente27

ÍNDICE DE ANEXOS

| Anexo | Página |
|--|--------|
| 1. Protocolo para la extracción de ADN total (planta y viral) de Doyle & Doyle modificado para tomate..... | 36 |
| 2. Reactivos para la extracción de ADN..... | 37 |
| 3. Electroforesis..... | 38 |
| 4. Protocolos para Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)..... | 39 |
| 5. Secuencia de los primers | 39 |
| 6. Preparación de Bromuro de Etidio..... | 40 |
| 7. Plan de Aplicaciones de Agroquímicos al cultivo del tomate..... | 41 |
| 8. Fichas de información | 48 |
| 9. Presentación de la defensa de tesis | 81 |
| 10. Árbol filogenético de muestras tomate y chile de Honduras | 83 |

1. INTRODUCCIÓN

La incidencia y severidad de infecciones virales en los cultivos hortícolas se ha incrementado durante los últimos años hasta convertirse en uno de los factores limitantes más importantes en la producción de varios cultivos en Honduras, como tomate, chile y cucurbitáceas (Sponagel y Fúnez 1994).

Hasta la fecha, no se ha encontrado resistencia genética convencional que haya permitido desarrollar variedades resistentes para el uso comercial. La única alternativa viable a la producción eficiente de tomate libre de virus ha sido la producción en macrotúneles con mallas que excluyen la presencia de vectores de virus.

Desde 1985, unos 18 cultivos en América Latina han sido afectados por mosca blanca (*Bemisia tabaci*). A pesar de que ha habido casos de daño directo en cultivos como algodón, melón y soya, se presenta la transmisión de geminivirus, especialmente en los cultivos del frijol, tomate y chile. El número de biotipos de mosca blanca (tres han sido reportados) y el tipo de virus (17 han sido reportados), así como el tipo de interacción entre ellos, hacen difícil lidiar con este problema. Históricamente, este problema sigue un patrón desigual en términos geográficos. Las pérdidas económicas en los cultivos afectados por mosca blanca han sido elevadas, provocando crisis en varios países (Hilje 2002).

Las infecciones virales en cultivos hortícolas en Centro América son el principal problema en la producción, y es por ello que se ha abusado del uso de agroquímicos para controlar a los insectos vectores, creando problemas de resistencia, contaminación ambiental y daños a la salud humana y animal. El combate de mosca blanca mediante el uso exclusivo de insecticidas convencionales es ineficaz, porque aún a densidades muy bajas se infectan todas las plantas en una parcela, a veces con pérdidas altas (Hilje y Arboleda 1993).

Uno de los factores que más ha influido en incrementar la incidencia de infecciones virales en cultivos hortícolas es el monocultivo o cultivos hospederos del mismo patógeno y vector (tomate, chile y cucúrbitas), donde los agricultores se dedican a producir los mismos cultivos por períodos prolongados (o fuera de estación si utilizan riego), aumentando así la población de insectos vectores de virus.

Los géneros de la familia solanácea y cucurbitácea son hospederos de mosca blanca, transmisor de geminivirus. Aunque existen docenas de otros virus que atacan al tomate, chile y otras solanáceas, estudios previos realizados en Honduras, Nicaragua, El Salvador y Guatemala han establecido que las infecciones por geminivirus son las de mayor incidencia en tomate y a las que se atribuyen las mayores pérdidas en rendimiento (Roca 2003). Sin embargo, la incidencia de las diferentes infecciones virales en tomate y chile es muy variable año tras año y depende, en gran medida, de

las condiciones agroecológicas y climáticas que afectan la dinámica poblacional de los insectos vectores (Roca 2004).

Muchos productores siembran tomate y chile (de la familia solanácea) y cucúrbitas al mismo tiempo, en parcelas cercanas que aumenta la incidencia de mosca blanca, lo que conlleva a mayores aplicaciones de insecticidas. Muchas zonas hortícolas han desaparecido, como es el caso del Valle de Comayagua en Honduras, que por muchos años fue una de las zonas hortícolas más importantes del país. En la actualidad ya no es posible la producción de tomate en esa zona y ha sido abandonada para este fin.

Los productores de tomate y chile buscan nuevas zonas donde la incidencia de insectos vectores es menor. Tal es el caso de la zona de Danlí y Cantarranas en Honduras, donde la producción de tomate se realiza con intensas aplicaciones de insecticidas y otros plaguicidas y en cuestión de tiempo tendrán el mismo problema que en el Valle de Comayagua, y lo mismo sucede en otras zonas hortícolas en Centro América.



Figura 1. Uso excesivo de agroquímicos en zonas productoras de tomate y chile en Honduras

Aprovechando la incertidumbre de los agricultores, algunas casas comerciales han fomentado ideas de que las aplicaciones de insecticidas no son eficaces y atribuyen los síntomas en tomate a fitoplasmas, ya que en otras solanáceas como la papa, se han reportado pérdidas cuantiosas por infecciones con este tipo de patógeno.

En Zamorano, en zona II (campo abierto), desde hace más de 3 años se ha abandonado la producción de tomate y chile debido a que no es posible manejar las infecciones virales, es por ello que se ha cambiado al sistema de agricultura de protección, en macrotúneles (zona III) para estos dos cultivos principalmente. Algunas de estas infraestructuras no protegen a los cultivos totalmente, ya que el plástico y las mallas utilizadas tienen agujeros que permiten la entrada de insectos vectores de virus. Por ello, se están viendo pérdidas importantes en la producción a causa de infecciones virales. Para sistemas de agricultura protegida en Zamorano, se esperan rendimientos de 100 toneladas por hectárea, pero actualmente se producen 80 toneladas por hectárea.

Desde finales de la década de los 90, el cultivo de papa ha sido afectado por una nueva enfermedad denominada “punta morada de la papa”, causada por un fitoplasma, que disminuye la calidad de los tubérculos al inducir la acumulación de metabolitos ocasionándoles un manchado interno que los hace inadecuados para la industria¹. Las pérdidas ocasionadas por punta morada de la papa son muy elevadas (hasta 100% en algunos casos) en México, con una disminución directa de la producción o la afección de la viabilidad de los tubérculos que se usarán como “semilla” en el siguiente ciclo (Martínez-Soriano *et al.* 1999).

Aunque sí se ha reportado la punta morada de la papa en Centro América, hasta la fecha sólo se ha reportado en Europa un tipo de fitoplasma en tomate conocido como “stolbur” (pero no en México ni Centro América)². La sintomatología observada en cultivos de tomate en Guatemala, El Salvador, Honduras y Nicaragua coincide con infecciones virales, especialmente con aquellas causadas por geminivirus, y no por infecciones causadas por un fitoplasma como el “stolbur”.

Desde el 2001 se han promovido campañas en México y Centro América por parte de casas comerciales de agroquímicos, para hacer aplicaciones de antibióticos en cultivos de tomate, por que los productores perciben que las aplicaciones de insecticidas son ineficientes para el control de insectos vectores de infecciones virales. Esto sugiere una posible resistencia que han generado los insectos a las aplicaciones de insecticidas.

El presente trabajo busca establecer si los síntomas observados en zonas productoras de tomate (*Lycopersicon esculentum*) en Guatemala, El Salvador, Honduras y Nicaragua, donde se ha recomendado el uso de antibióticos agrícolas, es causado por infecciones de geminivirus o de fitoplasmas. Este trabajo es una continuación del estudio “Identificación de las principales infecciones virales en los cultivos de chile, tomate y sandía en Honduras” realizado por Edith Bermeo como parte del proyecto IPM CRSP, ejecutado por el programa de fitoprotección de la carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria de Zamorano.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo general

Establecer si los daños observados en plantaciones de tomate en zonas productoras de Guatemala, El Salvador, Honduras y Nicaragua son causados por geminivirus o fitoplasmas.

¹ Congreso Nacional de Productores de Papa. 2ª Simposio Internacional de la Papa. Toluca México. 1998

² Roca, MM. 2005. Fitoplasmas en Cultivos Hortícolas (entrevista). Zamorano, Honduras

1.1.2 Objetivos específicos

Determinar la presencia de geminivirus y fitoplasmas en las zonas productoras de tomate recolectadas en los cuatro países utilizando la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

Establecer si el uso de antibióticos es justificado para manejar los problemas de producción de tomate en las zonas de estudio.

Desarrollar páginas informativas sobre los principales virus y fitoplasmas en los cultivos de tomate con información y recomendaciones de manejo de estas enfermedades, y sobre el uso y las aplicaciones apropiadas de antibióticos agrícolas para el cultivo del tomate en Centro América.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

De las diversas hortalizas que se explotan en Centro América, el tomate es el más importante, tanto por su importancia en el consumo diario, como por el valor de su producto; además es una planta que tiene un rango de adaptabilidad muy amplio ya que se cultiva en clima templado y tropical.

El tomate logró insertarse como el rubro principal de producción e ingreso económico para muchos productores en Centro América desde hace 15 años. Los productores han sufrido grandes fracasos en los tradicionales cultivos de granos básicos (maíz, frijoles y sorgo), debido a constantes temporadas de sequía y la desaparición paulatina de las fuentes de agua (Hilje y Arboleda 1993).

La producción agrícola es afectada negativamente por la introducción de diversas enfermedades, entre las cuales las de tipo viral, han constituido verdaderas epidemias y han sido limitantes para determinados cultivos (Aramburu *et al.* 2005).

En Centro América, una enfermedad en tomate causada por un virus transmitido por mosca blanca fue documentada por primera vez entre 1983 y 1984 en el Valle del Sébaco, una zona productora de tomate en Nicaragua (Rosset 1986). A mediados de 1986, el director de la Estación Experimental del Valle del Sébaco informó que el 100% de las plantas de tomate de las parcelas experimentales estaban infectadas con el virus (Hilje y Arboleda 1993).

Posteriormente, se reportaron enfermedades en tomate asociadas con mosca blanca (*Bemisia tabaci*), los cuales causaron pérdidas económicas significativas, en Guatemala en 1987, en El Salvador y Costa Rica en 1988, en Honduras en 1999, y en Panamá en 1991 (Hilje y Arboleda 1993). En 1989, se informó sobre la segunda detección de un geminivirus, en plantas de tomate en crecimiento, en el Valle Central de Costa Rica (Meneses *et al.* 1989).

Desde finales de los años 80s, en la mayoría de las áreas productoras de tomate de Florida, el Caribe, México, América Central, Venezuela y Brasil la incidencia de geminivirus transmitidos por mosca blanca ha sido alta, con consecuencias económicas devastadoras para este sector (Polston y Anderson 1999).

Se han realizado estudios formales para determinar las pérdidas en el cultivo del tomate causadas por geminivirus, pero es difícil adjudicar pérdidas exclusivamente a geminivirus, ya que siempre existen otros virus que causan pérdidas en las mismas plantaciones donde hay geminivirus.

Se ha reportado aproximadamente 17 virus de la familia Geminiviridae y más de 22 virus de otras familias como los causantes de las infecciones del tomate en América.

Los síntomas de infecciones causadas por geminivirus en tomate son semejantes a los inducidos por otros virus, especialmente, los causados por los Potyviridae y Tobamoviridae. Los síntomas de la infección por geminivirus varían de acuerdo al virus y a la cepa, el cultivar, la edad de la planta al momento de la infección y las condiciones ambientales. Los síntomas pueden ser combinaciones de mosaico amarillo brillante, moteados cloróticos, márgenes foliares cloróticos, rizado de las hojas, deformación de las hojas, arrugas o pliegues en las hojas, reducción en el tamaño de las hojas, crecimiento menor de las plantas infectadas, y abscisión de la flor (Polston y Anderson 1999).

Cuadro 1. Virus reportados en Honduras hasta el 2005 (Roca, 2005)

| Grupo al que pertenecen | Virus |
|--------------------------------|--|
| Tobamovirus | Tobacco Mosaic Virus (TMV) |
| | Tomato Mosaic Virus (ToMV) |
| | Pepper Mild Mottle Virus (PMMV) |
| Cucumovirus | Cucumber Mosaic Virus (CMV) |
| Potyvirus | Potato Virus Y (PVY) |
| | Zucchini Yellow Mosaic Virus (ZYMV) |
| | Watermelon Mosaic Virus (WMV) |
| | Tobacco Etch Virus (TEV) |
| | Pepper Mottle Virus (PepMoV) |
| Geminivirus | Pepper Golden Mosaic Virus (PepGMV) |
| | Tomato Mild Mottle Virus (ToMMoV) |
| | Tomato Mosaic Havana Virus (ToMHV) |
| | Tomato Severe Leaf Curl Virus (ToSLCV) |
| Tospovirus | Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV) |
| | Impatiens Necrotic Spot Virus (INSV) |

Hay un amplio rango de síntomas generados en cultivos hortícolas por infecciones virales, con lo que su identificación visual en el campo es casi imposible, es por ello que se han desarrollado técnicas moleculares en laboratorios para un diagnóstico acertado de las infecciones por el tipo de virus que atacan a los cultivos. Las infecciones virales muchas veces aparecen como infecciones mixtas, confundiendo los síntomas. Existen muchos tipos de virus que afectan al tomate, virus de ADN como geminivirus y de ARN como potyvirus, cucumovirus, tospovirus, entre otros.

Es necesario realizar pruebas de laboratorio para establecer la etiología correcta de las enfermedades, antes de llegar a conclusiones que podrían estar equivocadas. Se han desarrollado diversas pruebas para identificación de los geminivirus en tomate. Una de las más simples y precisas es la prueba de identificación de cuerpos de inclusión (Christie *et al.* 1986). Los geminivirus producen grandes inclusiones nucleares, las cuales se tiñen con Azul A. Estas inclusiones, que son características de los geminivirus, pueden observarse mediante un microscopio de luz. El tejido de tomate

es relativamente fácil para procesar, y se producen numerosas inclusiones en tejido foliar y flores infectadas (Cancino *et al.* 1995).

Otras pruebas utilizadas comúnmente, detectan el ácido nucleico de los geminivirus pero no su capa proteica. Las pruebas de hibridación mediante manchas y puntos en cucurbitáceas se basan en el uso de un ADN viral clonado, etiquetado con marcador biorradiactivo que es hibridizado para llegar al ADN viral fijado a una membrana (Gilbertson *et al.* 1991, Polston *et al.* 1993).

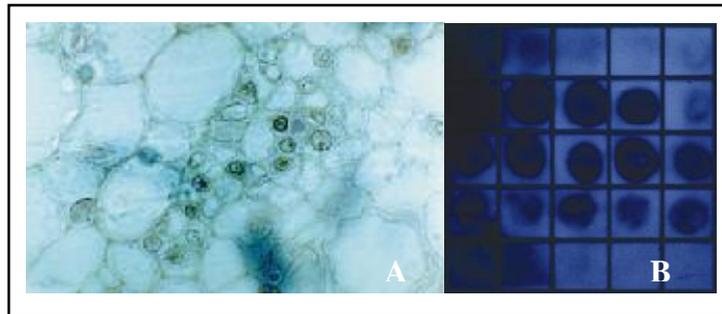


Figura 2. Pruebas de laboratorio utilizadas para la detección de geminivirus. A) Inclusiones granulares de un geminivirus afectando la pared celular de células del floema en tomate B) Detección de geminivirus mediante hibridación molecular. Los círculos negros indican la presencia del virus en la muestra analizada

Fuente: V. Villalba

La última prueba desarrollada para la detección de virus y fitoplasmas y la más confiable y utilizada es la amplificación del ADN a través de la Reacción en Cadena de Polimerasa (PRC). Esta prueba utiliza pequeñas cantidades de tejido seco, fresco o congelado y es extremadamente sensible para la detección de virus y fitoplasmas. La especificidad de la prueba puede controlarse mediante la selección de primers y las condiciones de la amplificación (Rojas *et al.* 1993).

Existe la percepción errónea de que todas las enfermedades virales, llamadas localmente virosis, son causadas exclusivamente por geminivirus transmitidos por mosca blanca, por lo que el manejo se ha basado en el uso excesivo de insecticidas para controlar el vector, y los agricultores creen que todas las infecciones virales que atacan al tomate son por geminivirus. En los últimos años se ha cambiado el énfasis de que todas las infecciones virales que atacan al tomate son causadas por geminivirus, a que todas las plantas con coloración morada en las hojas están infectadas por fitoplasmas. Ninguno de los dos conceptos es correcto.

2.1 VIRUS

2.1.1 Descripción de los virus en general

Los virus son entidades demasiado pequeñas para ser observadas al microscopio de luz; son parásitos obligados, se multiplican solamente en células vivas, y tienen la

habilidad de provocar enfermedades en humanos, animales y plantas. Un solo virus puede atacar a una o varias especies diferentes de plantas y una planta puede ser atacada por uno o varios virus, sean solos o en forma simultánea (Castaño-Zapata 1994, Agrios 1991).

Los virus consisten de ácido nucleico y proteína, con la proteína envolviendo al ácido nucleico que puede ser desoxiribonucleico (ADN) o ribonucleico (ARN). Los virus no se dividen y no producen estructuras reproductivas especializadas como lo hacen los hongos, pero se multiplican induciendo a las células del hospedante a formar más partículas de virus (Castaño-Zapata 1994).

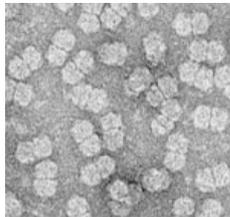


Figura 3. Microfotografía (microscopio electrónico) de partículas virales de un geminivirus
Fuente: John Innes Center

La lista de virus que atacan a los cultivos hortícolas es grande, es por ello que es importante enfocarse a los virus reportados en la región y a la fecha, ya que la dinámica de los virus cambia constantemente.

2.1.2 Sintomatología de geminivirus

El síntoma más común y en algunas ocasiones la única clase de síntoma que se produce es la reducción de la tasa de crecimiento de la planta, que resulta en varios grados de enanismo o achaparramiento de toda la planta. Los síntomas más obvios son generalmente aquellos que aparecen sobre el follaje, pero algunos virus pueden causar síntomas prominentes sobre el tallo, frutos y raíces, con o sin desarrollo de síntomas sobre las hojas. En casi todas las enfermedades virales de plantas, el virus se halla presente en toda la planta (infección sistémica) y los síntomas producidos se denominan síntomas sistémicos, los más comunes son los mosaicos y las manchas anulares. Otros síntomas virales menos comunes incluyen enrollamiento de la hoja, amarillamientos, rayado, tumores, depresión del tallo, depresión del fruto, aplanamiento y distorsión del tallo (Castaño-Zapata 1994).

2.1.3 Transmisión de geminivirus

Se transmiten a través de mosca blanca (*Bemisia tabaci*). Es de tipo persistente circulativo, y no propagativo en el vector, es decir, que no se propaga transováricamente a la progenie (Brown 2003).

2.1.4 Manejo de geminivirus en tomate

La mejor forma de controlar una enfermedad viral es mantenerla fuera de un área a través de sistemas de cuarentena, inspección y certificación. La erradicación de plantas enfermas y de las malezas hospederas con el fin de eliminar inóculo del campo de

virus puede ayudar a controlar la enfermedad. Las plantas pueden protegerse contra ciertos virus protegiéndolas contra sus vectores. La resistencia genética a virus es de gran importancia (Castaño-Zapata 1994).

El manejo de los geminivirus en tomate es difícil y costoso. El manejo regional deberá basarse en la reducción de la mosca blanca, y en lo posible, en la reducción del inóculo del virus: eliminación de hospedantes de mosca blanca (Csizinszky *et al.* 1995).

Los insecticidas son la práctica más utilizada y constituyen el enfoque más costoso para el manejo de geminivirus. Muchos insecticidas, aceites y jabones son utilizados para reducir las poblaciones de mosca blanca y la incidencia de plantas infectadas, tanto en condiciones de invernadero como de campo. Existen pocos insecticidas eficaces disponibles, debido al desarrollo de resistencia a estos productos por parte de las poblaciones de mosca blanca y, en el caso de pequeños productores, a su elevado costo. La eficacia de los insecticidas puede incrementarse cuando se rotan productos de grupos diferentes (Csizinszky *et al.* 1995).

Muchas tácticas culturales como la eliminación de cultivos y períodos de barbecho han logrado disminuir la incidencia de plantas infectadas con geminivirus. Sin embargo, estas prácticas no parecen ser eficaces, a menos que sean utilizadas en combinación con insecticidas. El tener épocas sin la presencia de hospedantes de mosca blanca, permite reducir las poblaciones de este insecto y en algunos casos disminuye el número de vectores virulentos. Los semilleros de tomate deben producirse lejos de las áreas de producción. El uso de coberturas en surcos de plantas en crecimiento (plasticultura), microtúneles y macrotúneles con mallas en buenas condiciones (sin hoyos), pueden ayudar a retardar la aparición de la infección. No se deben sembrar nuevas plantaciones de tomate cerca o en dirección al viento, desde plantaciones ya establecidas. Las coberturas que reflejan la luz ultravioleta han logrado disminuir la incidencia de plantas de tomate infectadas con el virus, en las primeras etapas del ciclo del cultivo (Csizinszky *et al.* 1995).

2.1.5 Geminivirus más importantes reportados en tomate y chile en el Norte y Centro América

Las fotografías de los diferentes síntomas de geminivirus fueron obtenidas del Proyecto Gemini Detective, de la Dra. Judith Brown, en la Universidad de Arizona.

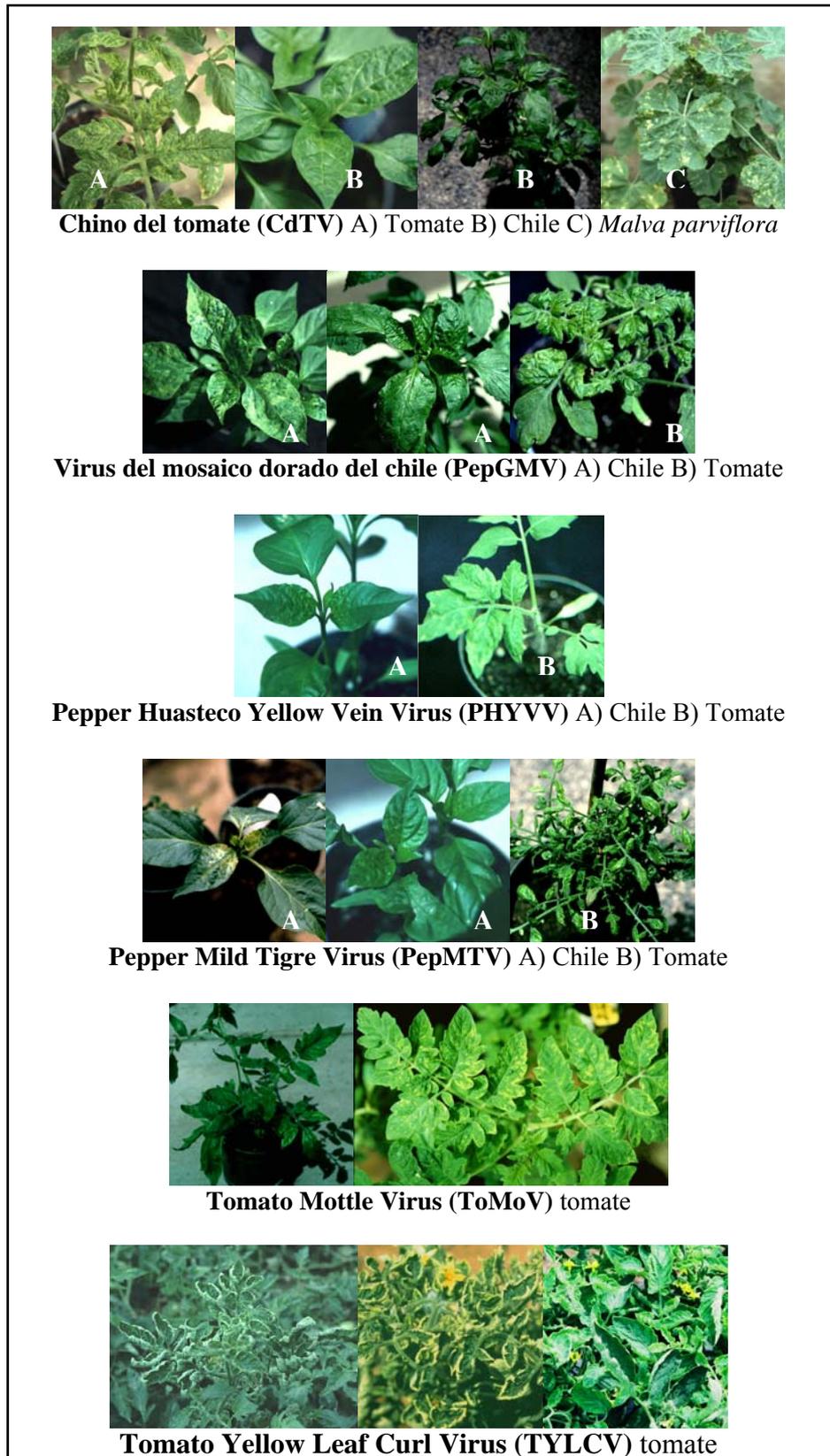


Figura 4. Síntomas de geminivirus en tomate y chile

2.2 FITOPLASMAS

2.2.1 Descripción de los fitoplasmas

Los organismos de tipo fitoplasmas fueron inicialmente considerados como virus con características poco comunes, hasta que en 1967 se demostró por primera vez su presencia en tejido vegetal por medio de microscopía electrónica (Icochea 1980, Schaad *et al.* 2001).

En la actualidad, los fitoplasmas están clasificados en la clase Mollicutes; son organismos parecidos a las bacterias que carecen de pared celular. Tienen una estructura celular procariótica y genoma muy pequeño (600 Kb) (Freundt 1974).

Existe evidencia proveniente de estudios moleculares que han demostrado que los fitoplasmas son un grupo único de patógenos de plantas, bien diferenciados de los micoplasmas y de otros procariotes carentes de pared celular, por lo cual se conocen ahora con el nombre de fitoplasmas (Howard y Harrison 1999). El término fitoplasma fue oficialmente adoptado para reemplazar el término de organismos semejantes a micoplasmas (OLM) en 1994 en el X Congreso Internacional de la Organización Internacional de Micoplasmología (Schaad *et al.* 2001).

Los fitoplasmas se diferencian de los micoplasmas patogénicos a animales y humanos en algunas características importantes: los fitoplasmas viven dentro de las células floemáticas de las plantas mientras que los micoplasmas patogénicos a animales y humanos tienen la capacidad de desarrollarse dentro de los espacios intercelulares de los tejidos que colonizan. Los fitoplasmas a diferencia de los micoplasmas no pueden ser cultivados sobre sustratos artificiales debido a que carecen de los genes necesarios para la síntesis de algunos aminoácidos, ácidos grasos y lípidos esenciales para el desarrollo fuera del hospedero (Freundt 1974), es por ello que la identificación de fitoplasmas se basa en análisis moleculares y en microscopía electrónica (Schaad *et al.* 2001).

Los fitoplasmas se encuentran en los tubos cribosos y ocasionalmente en las células parenquimáticas del floema de las plantas infectadas. Al entrar al floema de los tejidos de las plantas, provocan la formación de polisacáridos que bloquean parcialmente el movimiento de la savia, impidiendo la distribución normal de nutrientes, fitohormonas y enzimas, lo que da como resultado la expresión de los síntomas. Estos organismos son pleomórficos, carecen de pared celular y están rodeados por una membrana unitaria (Castaño-Zapata 1994).

Los síntomas causados por los fitoplasmas pueden ser suprimidos con el uso de antibióticos del grupo de las tetraciclinas e individualmente pueden curarse las plantas por tratamiento con calor (Icochea 1980, Schaad *et al.* 2001).

En la figura 6 se muestra el número de fitoplasmas que están presentes en el tejido criboso del floema en la parte superior de la figura, a diferencia del tejido criboso de la parte inferior izquierda que aparentemente está libre de fitoplasmas.

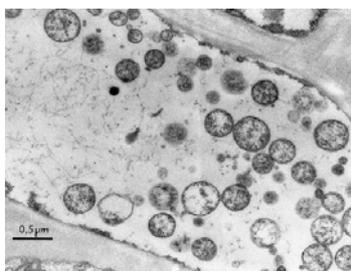


Figura 5. Micrografía electrónica de fitoplasmas encontrado en el floema
Fuente: Universidad de Alberta, Canadá

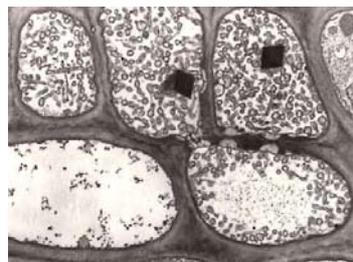


Figura 6. Micrografía del tejido del floema de gladiolo infectado por fitoplasmas
Fuente: Assunta Bertaccini
Sociedad Americana de Fitopatología

2.2.2 Sintomatología de las enfermedades causadas por fitoplasmas en cultivos hortícolas

El rango de síntomas causados por fitoplasmas es muy diverso, incluye clorosis o amarillamiento, reducción en el crecimiento, producción de hojas pequeñas y/o distorsionadas, acortamiento de entrenudos, excesiva proliferación de retoños y muerte descendente más o menos rápida (Castaño-Zapata 1994). Muchas veces pueden ser confundidos con síntomas virales; a este tipo de síntomas se les conoce como viricencia.

2.2.3 Transmisión de los fitoplasmas

Los fitoplasmas son organismos que en relación a su vector son considerados patógenos transmitidos en forma persistente, por lo tanto requieren de largos períodos de adquisición. Los períodos de adquisición hasta ahora reportados en la transmisión de fitoplasmas son muy variables. La gran mayoría son transmitidos en períodos de adquisición de dos a más de 30 días, aunque algunas variantes del amarillamiento del áster pueden ser transmitidos entre 8 y 24 horas. En todos los casos hasta ahora estudiados, los vectores de fitoplasmas requieren de un período de incubación (desde la adquisición hasta la transmisión), que varía, dependiendo del fitoplasma, entre 10 y 35 días. Varios estudios han demostrado que los fitoplasmas son propagativos en su vector y pueden inducir cambios benéficos y perjudiciales en ellos. Estos organismos pueden persistir en su vector hasta 88 días en algunos casos. Durante este tiempo los insectos pueden transmitir al fitoplasma (Salazar s.f.).

2.2.4 Manejo de fitoplasmas

Los antibióticos del grupo la tetraciclina inhiben la síntesis de proteínas interrumpiendo el desarrollo de los fitoplasmas (Castaño-Zapata 1994).

Uno de los antibióticos utilizados para el control de fitoplasmas en Centro América es Terramicina® Agrícola 5% de la casa comercial Pfizer, formulado a base de

Clorhidrato de Oxitetraciclina, específico para el control de fitoplasmas en cultivos afectados por este patógeno como tomate y papa, con efecto bacteriostático, de acción sistemática (Pfizer 2005). El control no es total ya que el antibiótico como la oxitetraciclina no elimina a los fitoplasmas, simplemente hay una remisión de síntomas ya que el antibiótico actúa en los ribosomas y una vez que se pasa el efecto del antibiótico, los fitoplasmas se multiplican y aparecen nuevamente los síntomas (Almeyda-León 2005).

Según el reporte técnico sobre punta morada de la papa en México realizado por la Red Electrónica de la Papa, la aspersión de oxitetraciclina cada cinco días a las plantas con una concentración de 200 partes por millón, reduce en forma significativa el daño de punta morada, puede aumentar los rendimientos de un 20 a 65% y mejora la calidad de los tubérculos (García y Flores 2003).

Otro estudio en México sobre la transmisión y control de punta morada en papa afirma que el porcentaje de tejido de tubérculo dañado disminuye con la aplicación de los antibióticos terramicina agrícola y Bactrol®, de la casa comercial Mexicana BASF, a base de sulfato de gentamicina y clorhidrato de oxitetraciclina (García y Rodríguez s.f.).

2.2.5 Enfermedades hortícolas transmitidas por fitoplasmas

2.2.5.1 Punta morada de la papa

La punta morada de la papa es la única enfermedad en hortalizas causada por fitoplasmas reportada en América, por lo cual es importante hacer mención de esta enfermedad en el estudio. En Europa se ha reportado una enfermedad en tomate causada por un fitoplasma.

En los últimos años, el cultivo de la papa ha sido afectado notablemente por las enfermedades conocidas, por su sintomatología, como “punta morada” y “bola de hilo”. Se tiene evidencia de que un fitoplasma, es el agente causal de estos síndromes y es transmitido por un insecto vector de la familia Cicadellidae (Martínez-Soriano *et al.* 1999). El fitoplasma que causa la punta morada de la papa o “Potato Purple Top” (PPT) pertenece al grupo 16SrI, que es el gen que amplifican los primers P1/P7 (Leyva-López *et al.* 2002).

2.2.5.1.1 Síntomas de la punta morada en la papa

En la papa afectada por punta morada, los folíolos superiores se enrollan y muestran pigmentación purpúrea o amarilla, se forman tubérculos aéreos y ocasionalmente hay proliferación de yemas axilares. A menudo sólo un tallo de la planta se encuentra afectado. Las plantas se quedan enanas y pueden llegar a morir prematuramente (Icochea 1980).



Figura 7. Síntomas de punta morada en papa A) Proliferación de yemas axilares en los tubérculos B) Coloración morada en las hojas, Valle de Toluca, México, 2002
Fuente: José García y Arturo Flores, Red electrónica de la Papa

2.2.5.1.2 Vector del fitoplasma que ocasiona punta morada en papa

El vector del fitoplasma causante de la punta morada en papa es un psílido conocido como *Paratrioza cockerelli* (Godfrey y Haviland 2003) perteneciente al orden Homóptero (Drees y Jackman 1999). Tiene una tamaño de 0.08 pulgadas (aproximadamente 2 mm), están relacionados a áfidos y saltahojas (Godfrey y Haviland 2003).

Los adultos tienen alas bien definidas que descansan sobre el cuerpo en forma de techo. Aunque este psílido es predominantemente negro, tiene unas marcas blancas. El primer segmento del abdomen presenta una amplia banda blanca, el último segmento tiene “V” invertida de color blanco. Los psíldos saltan fácilmente cuando son perturbados (Godfrey y Haviland 2003).



Figura 8. Ciclo de vida de *Paratrioza cockerelli* A) Huevos B) Ninfas C) Adulto
Fuente: Jack Kelly Clark, Universidad de California

Los huevos son extremadamente pequeños, ligeramente más largos que los tricomas de las hojas y se encuentran usualmente en el envés de la hoja. Las ninfas son planas y verdes con una franja de espinas cortas alrededor del borde. Las etapas inmaduras pasan por 5 instares en un período de 13 días (Godfrey y Haviland 2003).

El daño de *Paratrioza cockerelli* es causado por una toxina que el psílido en etapa inmadura produce cuando se está alimentando, además del daño producido al

transmitir el fitoplasma a la planta. Los adultos no causan daño en las plantas. Los síntomas incluyen un enrollamiento hacia arriba de las hojas cercanas al tallo en la parte superior de la planta. Cuando la enfermedad está establecida, los síntomas se vuelven más evidentes. El amarillamiento de las plantas es el síntoma más común, aunque en algunas variedades se presenta una coloración morada. Si los estadios inmaduros son removidos de las plantas, se detiene el avance de la enfermedad. Tres a cuatro ninfas por plantas pueden producir los síntomas de la enfermedad, pero se requieren de más ninfas para provocar síntomas severos (Godfrey y Haviland 2003).

Los tubérculos de la papa producidas por plantas cloróticas son pequeños, malformados y no apto para usos comerciales (Drees y Jackman 1999).

En California estos psílicos son efectivamente controlados por enemigos naturales como “minute pirate bugs” (*Orius* spp., Orden Hemiptera, Familia Anthocoridae) y “damsel bugs” (*Nabis* spp., Orden Hemiptera, Familia Nabidae). Los adultos pueden ser monitoreados con redes o trampas amarillas en formas cónicas que contienen una cantidad pequeña de etilenglicol (Godfrey y Haviland 2003).

2.2.5.2 Stolbur en tomate

Los síntomas en tomate causados por stolbur son coloración morada en las hojas y desarrollo excesivo de tallos laterales. No hay mucha información en la literatura sobre stolbur en tomate, y menos sobre su manejo.



Figura 9. Síntomas causados por Stolbur en tomate
Fuente: European Plant Protection Organization (EPPO), 2005

2.3 BACTERIAS

2.3.1 Peca Bacteriana: Organismo causal

Pseudomonas syringae pv *tomato*

2.3.2 Sintomatología de peca bacteriana en el cultivo de tomate

Afecta hojas, tallos y frutos. En las hojas aparecen pequeñas manchas pardas (2-3 mm de diámetro), se manifiestan principalmente en los márgenes y están rodeadas de un halo amarillo prominente, las mismas pueden confluir y los folíolos pueden adquirir

un aspecto quemado. En frutos verdes se desarrollan lesiones superficiales, generalmente de color pardo de forma circular, se distingue de las lesiones producidas por la mancha bacteriana por ser de tamaño más pequeño y no presentar halo clorótico (Rista s.f.).



Figura 10. Síntomas de peca bacteriana en el tomate ocasionado por *P. syringae*
Fuente: Robert Floyd
Departamento de Agricultura, Australia



Figura 11. Peca bacteriana en el tomate
Fuente: A. Collmer
Universidad de Cornell

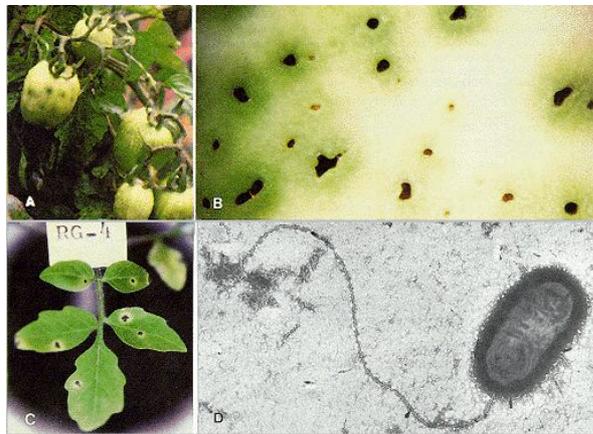


Figura 12. Infección por peca bacteriana A) Síntomas de la enfermedad a nivel de frutos en el campo, observándose las lesiones necróticas. B) Detalle de las lesiones (pecas) rodeadas de un halo verde intenso en la superficie del fruto. C) Síntomas de la enfermedad en plántula de tomate inoculada. D) Micrografía electrónica de una célula de la bacteria *P. syrrngae* pv. *tomato* mostrando un flagelo polar (28.000 X).

Fuente: Williams Hidalgo y José Camino,
Universidad Nacional Experimental de Los Llanos Ezequiel Zamorano, Venezuela

2.3.3 Epidemiología de la enfermedad peca bacteriana en tomate

2.3.3.1 Supervivencia

El patógeno sobrevive en el suelo, en la rizosfera de las raíces, en restos vegetales, como epífita en tomate y malezas, pudiendo además sobrevivir en las semillas (Rista s.f.).

2.3.3.2 Diseminación

Por la lluvia y el viento, que puede transportar gotas de agua (que contiene bacterias) a grandes distancias (Rista s.f.).

2.3.3.3 Condiciones predisponentes

Temperaturas relativamente bajas, la óptima se sitúa alrededor de los 20° C, humedad relativa ambiente elevada (rocío, niebla, lluvias, riego por aspersión), en particular la presencia de una película de agua sobre las plantas. Si se mantienen las condiciones mencionadas durante 24 horas se asegura la aparición de la enfermedad, cuyos síntomas se hacen presentes 8 a 10 días después de la inoculación (Rista s.f.).

2.3.4 Hospederos de *Pseudomonas syringae* pv *tomato*

Tomate (Rista s.f.)

2.3.5 Manejo de peca bacteriana en tomate

No existe ningún método de manejo curativo. En invernaderos es conveniente el manejo de la humedad, evitando la presencia de agua libre en las plantas, ventilando en forma abundante. Se hacen aplicaciones de cobre en forma preventiva como caldo bordelés, o como oxiclورو de cobre lo que puede disminuir la incidencia y la dispersión del organismo patógeno. Al finalizar el cultivo se sugiere la eliminación de todos los restos vegetales. Se recomienda establecer una rotación de cultivos de por lo menos de un año con especies no susceptibles, utilizar semillas provenientes de zonas libres de esta enfermedad. Se puede tratar la semilla con hipoclorito de sodio al 1% por un minuto luego sembrar (Rista s.f.).

2.4 USO DE ANTIBIÓTICOS AGRÍCOLAS Y SU EFECTO EN LA SALUD HUMANA Y ANIMAL Y EN EL AMBIENTE

Los agentes antimicrobianos actúan por distintos mecanismos en diferentes regiones de la célula infectada: pared bacteriana, membrana bacteriana, síntesis de proteínas y síntesis de ácidos nucleicos. Los antibióticos que atacan la pared bacteriana ejercen su efecto a través del bloqueo de su síntesis; interfieren con la síntesis de peptidoglicanos, elementos esenciales de la constitución de la pared. Los defectos de la pared celular llevan a la lisis bacteriana. Actúan solamente frente a microorganismos que están en crecimiento activo. Las tetraciclinas se unen al ribosoma en la porción 30 S, induciendo errores en la lectura de la información aportada por el ARN mensajero. De esta manera, la proteína que se sintetice contendrá errores y no será útil; también son capaces de inducir alteraciones de las membranas. Los agentes que actúan a nivel de los ácidos nucleicos son varios y sus mecanismos de acción diversos: acción como antimetabolitos impidiendo la síntesis de purinas; actúan a nivel de las cadenas de ADN, impidiendo el super enrrollamiento, por inhibición de una topoisomerasa, la girasa de ADN; disrupción de las cadenas de ADN, impidiendo su reparación;

impedimento para la lectura codónica ADN-ARN mensajero, entre otros mecanismos de acción (Errekalde 2004).

Los antibióticos en el cultivo de tomate en los países referidos en este estudio, se utilizan para control de enfermedades provocadas por bacterias como el chancro bacteriano del tomate (*Clavibacter michiganensis*), peca bacteriana (*Pseudomonas syringae*), sarna bacteriana (*Xanthomonas campestris*), podredumbres blandas (*Erwinia carotovora*), entre otras, siendo la peca bacteriana el principal problema.

Los problemas que se pueden generar de la aplicación excesiva de antibióticas son resistencia, contaminación a la salud humana y animal y del medio ambiente . La resistencia a los antibióticos ocurre cuando un antibiótico ha perdido su habilidad para matar efectivamente o controlar el crecimiento bacteriano. Una vez que las bacterias desarrollan resistencia a la aplicación de antibióticos, pueden seguir viviendo y/o multiplicarse y causar una infección incluso después que se ha hecho la aplicación.

La contaminación al suelo se produce por el aumento en el uso agroquímicos, con efectos en la percolación y lixiviación de estas sustancias tóxicas a través de los perfiles del suelo. Las poblaciones de organismos benéficos para los cultivos y de enemigos naturales a ciertas plagas se reducen con las aplicaciones continuas de agroquímicos, lo que genera un riesgo potencial para la productividad de los cultivos hortícolas en nuestros países y para el medio ambiente.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una evaluación en zonas productoras de tomate en Guatemala, El Salvador, Honduras y Nicaragua, donde se hizo un análisis visual de los síntomas y una recolección de 112 muestras representativas de todos los síntomas observados. Las muestras fueron analizadas por PCR en el Laboratorio Molecular de Zamorano para detectar geminivirus y fitoplasmas. Por restricciones presupuestarias, no se realizaron pruebas serológicas para la detección de otros virus.

3.1 MUESTREO

3.1.1 Lugares muestreados

Se colectaron muestras en las zonas productoras de tomate en Guatemala, El Salvador, Honduras y Nicaragua. Dichas muestras se colectaron entre los meses de mayo y agosto de 2005.

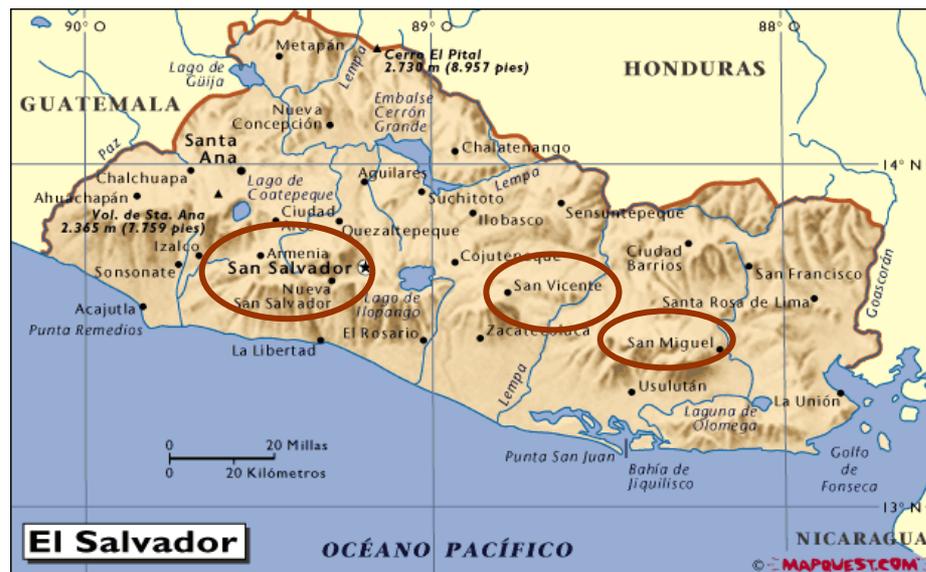
Las muestras de Guatemala fueron colectadas por técnicos del grupo Syngenta interesados en establecer si se justificaba el uso de antibióticos en plantaciones de tomate, en dos zonas productoras de tomate y enviadas al Laboratorio Molecular de Zamorano. Las muestras de El Salvador se colectaron en parcelas que reciben asistencia técnica del Programa de Manejo Integrado de Plagas de América Central (PROMIPAC-El Salvador), en la zona occidental del país. Las plantaciones visitadas en El Salvador fueron de pequeños productores que tenían en promedio 0.2 ha.

La primera zona muestreada en Honduras fue Comayagua, pero no se encontraron plantaciones de tomate, ya que se ha abandonado la producción de tomate en esa zona por la alta incidencia de infecciones virales que afectan al cultivo. Las muestras de Danlí en Honduras fueron colectadas por el técnico del FINTRAC CDA de la zona Centro Oriente del país. Las muestras de Estelí y Sébaco de Nicaragua fueron tomadas con el técnico regional de Bayer en Nicaragua, en zonas productoras donde brindan asistencia técnica. Las muestras de Mozonte en Nicaragua fueron colectadas con el apoyo de PROMIPAC-Nicaragua.

Los sitios muestreados fueron en zonas productoras de tomate donde los grupos Syngenta, Bayer, Fintrac CDA y PROMIPAC brindan asistencia técnica a los pequeños agricultores.

Cuadro 2. Número de muestras de tomate colectadas por país en el año 2005.

| País | Lugar | Fecha | # de muestras |
|--------------------|-----------------|--------|---------------|
| Guatemala | | | |
| | No identificado | mayo | 18 |
| Subtotal | | | 18 |
| El Salvador | | | |
| | San Vicente | julio | 10 |
| | San Salvador | julio | 6 |
| | Morazán | julio | 6 |
| Subtotal | | | 22 |
| Honduras | | | |
| | Zamorano | mayo | 8 |
| | Cantarranas | junio | 29 |
| | Danlí | julio | 4 |
| Subtotal | | | 41 |
| Nicaragua | | | |
| | Sébaco | agosto | 17 |
| | Estelí | agosto | 4 |
| | Mozonte | agosto | 10 |
| Subtotal | | | 31 |
| TOTAL | | | 112 |

**Figura 13.** Zonas muestreadas en El Salvador

Fuente: Mapquest



Figura 14. Zonas muestreadas en Honduras

Fuente: Mapquest



Figura 15. Zonas muestreadas en Nicaragua

Fuente: Mapquest

3.1.2 Recolección e identificación de las muestras

Las plantas muestreadas fueron aquellas que presentaban una sintomatología generalmente asociada con infecciones virales: mosaico, moteado, arrugamiento de las hojas, deformación de las hojas y frutos, achaparramiento y clorosis y coloración rojiza-morada en las nervaduras de las hojas. Las muestras se tomaron de tejido foliar, principalmente de brotes o tejido joven en crecimiento activo con síntomas de daño. A

continuación se presentan algunas fotografías de los síntomas antes mencionados durante la recolección de las muestras en Honduras, El Salvador y Nicaragua.

3.1.2.1 Honduras



Figura 16. Síntomas de virus y punta morada observados en Honduras

3.1.2.2 El Salvador



Figura 17. Síntomas de virus y punta morada observados en El Salvador

3.1.2.3 Nicaragua



Figura 18. Síntomas de virus y punta morada observados en Nicaragua

La recolección del material vegetal se hizo usando papel toalla para cortar y envolver el tejido. El material se colocó en bolsas plásticas rotuladas y se guardaron en una hielera para mantener el tejido fresco hasta llegar al Laboratorio Molecular de

Zamorano, donde se almacenaron a 4 °C por no más de 15 días antes de ser procesadas.

A cada muestra se les asignó la nomenclatura usada en el Laboratorio Molecular de Zamorano. Por ejemplo: la muestra GuaT-501 significa:

Gua = lugar de recolección: Guatemala.

T = cultivo: tomate.

501 = número correlativo de muestras recolectadas.

3.2 PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS EN EL LABORATORIO

3.2.1 Método de extracción y purificación de ADN

Para la extracción y purificación del ADN de todas las muestras se utilizó el protocolo de ADN total (planta y viral) de Doyle & Doyle modificado para tomate (Bermeo 2001).

3.2.2 Diagnóstico de virus de ADN: geminivirus

3.2.2.1 Método de amplificación de ADN

Para la amplificación del ADN de geminivirus a partir del ADN total (planta y viral) extraído, se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), cuyo principio fundamental es la amplificación de un fragmento específico de ADN a través de ciclos sucesivos de temperatura y tiempo determinados, hasta obtener suficiente producto para ser visualizado (Harris 1998).

La técnica de la PCR utiliza primers específicos, los cuales son diseñados basados en las secuencias de ácidos nucleicos que han sido identificados para el patógeno (Dickinson 2003).

Para la detección y amplificación de geminivirus se utilizaron los primers 514 y 1048 para geminivirus universal (J. Brown, Universidad de Arizona), los cuales fueron desarrollados para amplificar el gen de la cápside proteica de geminivirus del subgrupo III (Begomoviridae). Estos primers amplifican un producto de PCR de un peso molecular de 576 pb (pares de bases) nitrogenadas (Brown y Wyatt 1997). La amplificación de ADN fue realizada en un termociclador (Perkin Elmer 480) durante 30 ciclos de tres fases, inicialmente un ciclo de a 94°C durante tres minutos.

- 1. Fase de desnaturalización:** 94°C durante un minuto. A esta temperatura se separa la molécula doble de ADN en dos cadenas sencillas, que servirán como molde para la síntesis del fragmento específico.

2. **Fase de ligamiento:** 58°C durante un minuto. En esta etapa la temperatura se reduce para permitir el alineamiento de los cebadores en la región común de las cadenas de ADN molde.
3. **Fase de extensión:** 72°C durante un minuto. En esta etapa la enzima *Taq* Polimerasa realiza la extensión de los cebadores haciendo una copia completa del ADN viral.

Al final existe un ciclo de extensión prolongada a 72°C durante cinco minutos. Al final del primer ciclo se obtiene el doble de ADN viral, al realizarse durante 30 ciclos permite aumentar de manera exponencial la cantidad de ADN viral, acumulándose alrededor de 10^6 a 10^8 moléculas de AND, las cuales pueden ser visualizadas en una gel de agarosa (Moctezuma y Kahl 2000).

3.2.2.2 Método de electroforesis

El producto de PCR se analizó por el método de electroforesis. Esta técnica se basa en la separación de moléculas de ADN de acuerdo a su tamaño y peso molecular a través de una matriz semisólida (gel de agarosa) mediante la aplicación de un campo eléctrico. La movilidad del ADN a través de la matriz está en función de la carga negativa del ADN, por lo que los fragmentos migrarán hacia el polo positivo del tanque de electroforesis y la velocidad de migración dependerá del tamaño y la forma de la partícula (Moctezuma y Kahl 2000).

Se utilizaron geles de agarosa al 0.9%, colocadas en un tanque de electroforesis (Hoefler HE 33 o Midicell® Primo EC 330), cargadas con 3.5 μ l de muestra por pozo, colocando además de las muestras un marcador molecular (ADN de diferentes tamaños específicos), un control positivo y uno negativo amplificados anteriormente para asegurar resultados confiables. Las geles se corrieron a 85 voltios por 45 minutos aproximadamente, utilizando una fuente de poder (Bio-Rad 1000/500).

Para visualizar las bandas de ADN en las geles, éstas fueron teñidas con una solución de bromuro de etidio durante 10 minutos. Las moléculas de bromuro de etidio tienen la capacidad de intercalarse entre las bases del ADN y fluorecer bajo luz ultravioleta, permitiendo visualizar el ADN de forma indirecta (Moctezuma y Kahl 2000). Las geles teñidas fueron observadas en un transiluminador de rayos ultravioleta (UVP) y fotografiadas con una cámara Kodak DC 290.

3.2.3. Diagnóstico de fitoplasma

3.2.3.1 Método de amplificación de fitoplasma

Para la detección y amplificación de fitoplasma a partir del ADN total (planta y viral) extraído, se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), con los primers universales P1 y P7 para fitoplasmas. El primer P1 fue diseñado por Deng y

Hiruki y P7 diseñado por Schneider (Howard y Harrison 1999), los cuales amplifican el gen 16SrRNA. Estos primers amplifican un producto de PCR de un peso molecular de 1250 pb (pares de bases) nitrogenadas.

La amplificación de ADN fue realizada en un termociclador (Perkin Elmer 480) durante 30 ciclos, de tres fases, inicialmente un ciclo de desnaturalización a 94°C durante dos minutos.

- 1. Fase de desnaturalización:** 94°C durante un minuto.
- 2. Fase de ligamiento:** 55°C durante medio minuto.
- 3. Fase de extensión:** 72°C durante dos minutos.

Al final existe un ciclo de extensión prolongada a 72°C durante ocho minutos.

3.2.3.2 Método de electroforesis

El análisis del producto de la PCR se realizó igual que para geminivirus

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Geminivirus

Las muestras de tomate analizadas para geminivirus resultaron positivas para los cuatro países, con lo que se comprueba la presencia de geminivirus en las zonas productoras evaluadas. De las 112 muestras colectadas, 72 de ellas resultaron positivas, equivalentes a un 64%. Un 94% en Guatemala resultaron positivas a geminivirus, 83% en Honduras, 59% en El Salvador y un 26% en Nicaragua.

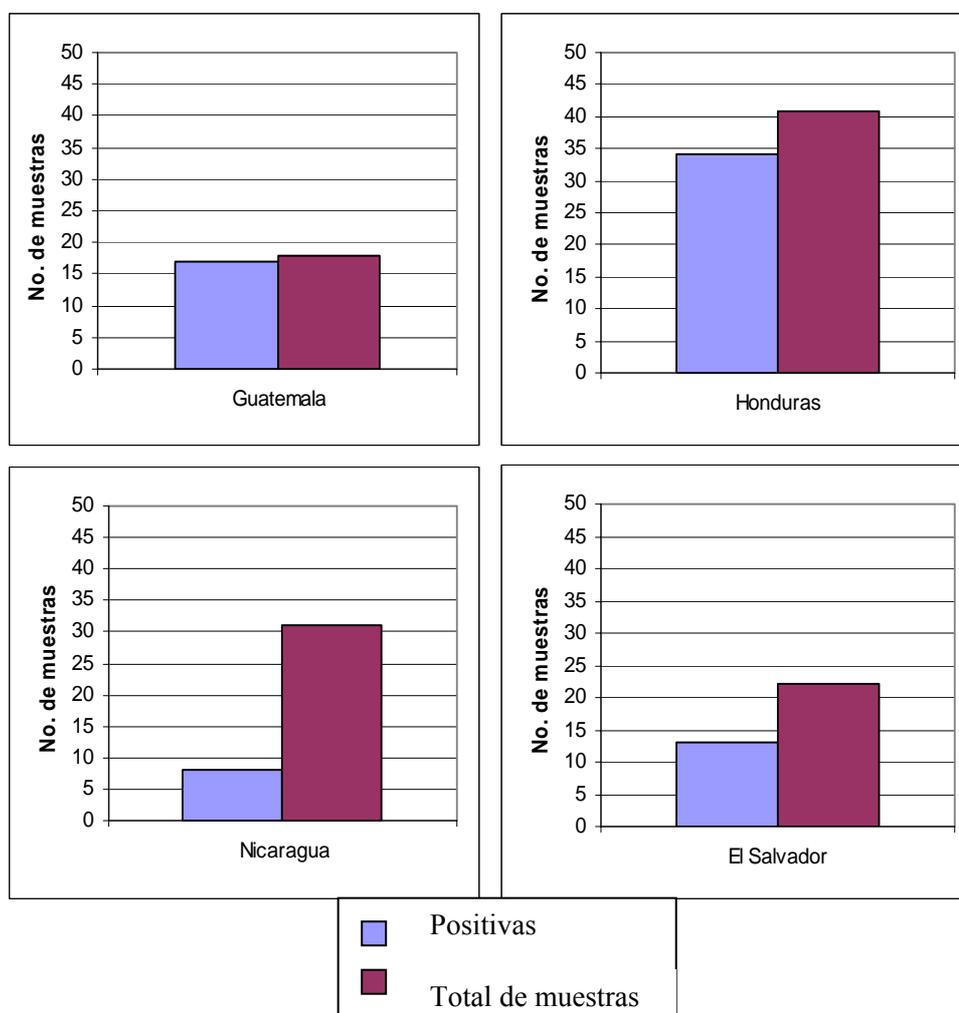


Figura 19. Muestras de tomate positivas a geminivirus según el país

Por falta de "kits" de diagnóstico no fue posible analizar las muestras para otros virus como el Virus del Mosaico del Pepino (CMV, Cucumber Mosaic Virus), Virus del Mosaico del Tabaco (TMV, Tobacco Mosaic Virus) u otro virus del grupo Potyvirus (cuadro 1). Sin embargo, por estudios anteriores y por lo reportado en la literatura, se estima que el resto de los síntomas (6% en Guatemala, 17% en Honduras, 41% en El Salvador y 74% en Nicaragua) que no son atribuibles a geminivirus o fitoplasmas, pueden atribuirse a otros virus comunes del cultivo del tomate. Tampoco se descartan factores abióticos como insuficiencias nutricionales, pero estos son menos probables, ya que los productores tienen un buen régimen de fertilización.

Las incidencia de infecciones virales son dinámicas debido a las condiciones agroecológicas y climáticas. Es un error pensar que los principales virus en tomate son geminivirus, ya que existen muchos otros virus que causan infecciones a este cultivo, por lo que se debe romper la idea de que cualquier infección viral que afecta al tomate es atribuible a geminivirus.

4.2 Fitoplasma

Todas las muestras de tomate resultaron negativas a fitoplasmas por la prueba molecular de PCR. La coloración morada en las hojas, atribuidas por muchos productores a un fitoplasma, puede ser ocasionada por una deficiencia de fósforo. Todos los virus interfieren con los procesos metabólicos de las plantas y muchos pueden ocasionar una mala absorción de fósforo.

En la siguiente gel de agarosa se aprecia una comparación entre muestras analizadas para geminivirus y fitoplasmas. El control positivo de geminivirus tiene un peso molecular de 576 pares de bases y el de fitoplasmas de 1250 pares de base. La muestra uno y dos son positivas a geminivirus, y las tres muestras son negativas a fitoplasmas. Esta gel es una muestra de los resultados obtenidos en todas las gels al analizarlas para geminivirus y fitoplasmas.

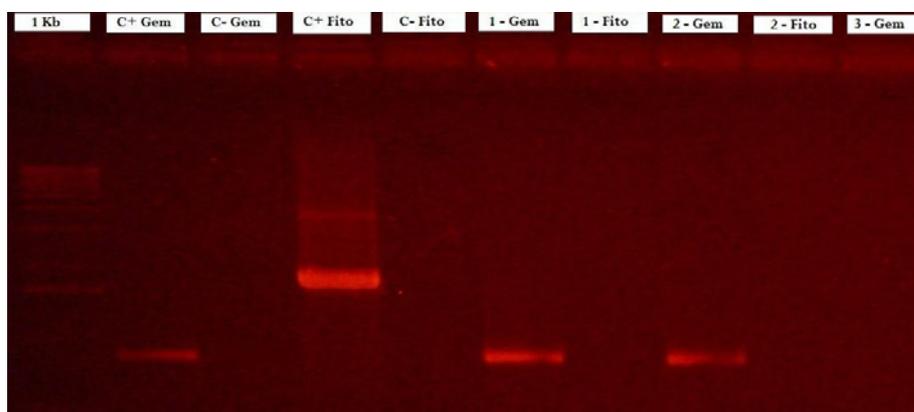


Figura 20. Gel de agarosa al 0.9% mostrando los resultados de la amplificación con los primers P1/P7 y 514/1048 con producto de PCR para fitoplasma y geminivirus respectivamente

5. CONCLUSIONES

Con los métodos utilizados en este estudio no se detectó la presencia de fitoplasmas en tomate en Guatemala, El Salvador, Honduras y Nicaragua. La coloración morada en las hojas no es causada por un fitoplasma que ocasiona la enfermedad de la punta morada de la papa, como se ha fomentado entre los agricultores por algunas casas comerciales.

Hasta la fecha, las infecciones virales siguen siendo el problema principal en las plantaciones de tomate y cultivos hortícolas en Centro América, presentándose no sólo un virus, si no una mezcla de virus que provoca un amplio rango de síntomas en el cultivo, dificultando su manejo e incitando a los agricultores al uso excesivo de plaguicidas para controlar los insectos vectores de virus. El porcentaje de incidencia de geminivirus fue de 94% en Guatemala, 83% en Honduras, 59% en El Salvador y un 26% en Nicaragua.

El manejo actual que se le da al cultivo de tomate no es el más apropiado ya que están aplicando grandes cantidades de antibióticos para el control de “punta morada”, que puede ocasionar problemas a la salud humana por resistencia a los antibióticos y disminuyendo las poblaciones de bacterias beneficiosas del suelo. El uso apropiado de antibióticos es para manejo de peca bacteriana, una de las enfermedades bacterianas reportadas en Centro América para el tomate.

6. RECOMENDACIONES

Conseguir fondos para realizar análisis para otros virus que atacan al tomate para determinar cuales son los virus que más causan daños en Centro América.

Establecer si el vector de la punta morada de la papa, *Paratrioza cockerelli*, está presente en plantaciones de tomate. De estar presente, determinar con análisis moleculares si está infectado por el fitoplasma que provoca la coloración morada en las hojas.

Informar a programas de extensión agrícola, a programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) y a las casas comerciales que en Centro América que no se ha detectado la presencia de fitoplasmas que indiquen el uso de antibióticos agrícolas.

Sembrar tomate en camas con sistemas de plasticultura o de protección como macrotúneles o invernaderos, para disminuir la alta incidencia de virus en los cultivos hortícolas, para reducir las pérdidas en la producción. Para la producción de tomate con sistemas de agricultura protegida, es preciso asegurar (dedicando tiempo y recursos) y mantener intactas las barreras físicas que evitan la entrada de insectos vectores. Las pérdidas en rendimiento pueden ser muy elevadas si no se mantienen intactas estas barreras, ya que se está produciendo un monocultivo intensamente.

Investigar sobre enemigos naturales que atacan a los insectos vectores de geminivirus, para fomentar el uso de control biológico en tomate.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G. 1991. Plant Pathology. 3 ed. Academic Press, San Diego, California. 803 p.
- Agrios, G.N. 1995. Fitopatología. Trad. por Manuel Guzmán Ortiz. 2 ed. México, D.F. Limusa. 838 p.
- Anderson, P. 1998. Tomato Yellow Leaf Curl Begomovirus: Spreading (en línea). Consultado 3 noviembre 2005. Disponible en: <http://www.agnic.org/pmp/1998/tyl0528.html>
- Almeyda-León, H. 2005. Manejo de los fitoplasmas. (correo electrónico). INIFAP, México.
- Alvarez, P.A.; Abud-Antun, A.J. 1995. Reporte de República Dominicana CEIBA (Honduras) 36:39-47.
- Aramburu, J.; Batlle, A.; Galipienso, L.; Laviña, A. 2005. Control biológico de las enfermedades de las plantas causadas por virus, fitoplasmas y de otras enfermedades transmisibles (en línea). Barcelona, IRTA. Consultado 14 septiembre 2005. Disponible en <http://www.agroinformacion.com/leer-articulo.aspx?not=411>
- Bermeo, E. 2001. Identificación de las principales infecciones virales en los cultivos de chile, tomate y sandía en Honduras. Tesis Ing. Agr. Honduras, Zamorano. 92 p.
- Bird, J.; Brown, J.K.; Sosa, M.; Nazario, G.M. 1995. Reporte de Puerto Rico. CEIBA (Honduras) 36:37-38.
- Black, L.L.; Green, S.K.; Hartman, G.L.; Poulos, J.M. 1991. Pepper Diseases: A field guide. Taipei, Taiwan. Asian Vegetable Research and Development Center Publication No. 91-347
- Blancard, D. 1992. Enfermedades del tomate. Ed. Mundi-prensa. Madrid, España. 212 p.
- Brunt, A.A.; Crabtree, K.; Dallwitz, M.J.; Gibbs, A.J.; Watson, L.; Zurcher, E.J. 1996. Plant viruses online. Descriptions and lists from the VIDE Database (en línea). Consultado 3 noviembre 2005. Disponible en: <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide/>
- Brown, J.K. 1994. Current status of *Bemisia tabaci* as a plant pest and virus vector in agroecosystems worldwide. FAO Plant Protection Bulletin 42(1-2): 3-32.

Brown, J.K. 2003. Gemini detective: Geminiviridae: Bogomoviruses whitefly transmitted geminiviruses (en línea). University of Arizona. Consultado 15 octubre 2005. Disponible en: <http://gemini.biosci.arizona.edu/>

Brown, J.K.; Bird, J. 1992. Whitefly-transmitted geminiviruses in the Americas and the Caribbean Basin: Past and present. *Plant Disease* 76: 220-225.

Brown, J.K.; Wyatt, S.D. 1997. Gemini detective. Havana Tomato virus – Cuba (HTV –CU) (en línea). Consultado 2 octubre 2005. Disponible en <http://gemini.biosci.arizona.edu/descriptions/htv-cu/htv.html>

Castaño-Zapata, J. 1994. Principios básicos de Fitopatología. 2 ed. Zamorano Academic Press, Honduras. 518 p.

Cancino, M.; Hiebert, E.; Purcifull, D.; Polston, J.E.; Morales, E J. 1995. Monoclonal antibody with broad specificity to whitefly-transmitted geminiviruses. *Phytopathology* 85:484-501.

CATIE. 1990. Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo de tomate. Turrialba, Costa Rica. Editorama S.A. 138 p. (Serie técnica, Informe No. 151).

CATIE. 1993. Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo de chile dulce. Turrialba, Costa Rica. Editorama S.A. 144 p. (Serie técnica, Informe No. 201).

Cerkauskas, R. 2004. The world vegetable center, fact sheet: pepper mild mottle virus (en línea). AVRDC. Consultado 27 octubre 2005. Disponible en: <http://www.avrdc.org/pdf/pepper/PMMV.pdf>

Cerkauskas, R. 2004. The world vegetable center, fact sheet: tomato mosaic virus (en línea). AVRDC. Consultado 27 octubre 2005. Disponible en: <http://www.avrdc.org/pdf/tomato/ToMV.pdf>

Christie, R.G.; Ko, N.J.; Falk, B.W.; Hie-Bert, E.; Lastra, R.; Bird, J.; Kim, K.S. 1986. Light microscopy of geminivirus induced nuclear inclusion bodies. *Phytopathology* 76:124-126.

Csizinszky, A.A.; Schuster, D.J.; Kring, J.B. 1995. Color mulches influence yield and insect pest populations in tomatoes. *Journal American Society Horticulture Science* 120:778-784.

Davis, R.M.; Falk, B.W.; Subbarao, K. 1996. Peppers: Tomato Spotted Wilt Virus (en línea). Consultado 3 noviembre 2005. Disponible en: <http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/r604100911.html>

Dickinson, M. 2003. *Molecular Plant Pathology*. London, England. BIOS Scientific Publishers. 244 p.

Drees, B.M.; Jackman, J. 1999. *Field guide to Texas insects* (en línea). Gulf Publishing Company, Houston, Texas. Consultado el 19 septiembre 2005. Disponible en: <http://insects.tamu.edu/fieldguide/aimg91.html>

EPPO. s.f. *Data sheets on quarantine pests: Impatiens Necrotic Spot Virus* (en línea). Cab International, Wallingford. Consultado 2 noviembre. Disponible en http://www.eppo.org/QUARANTINE/virus/Impatiens_necrotic_spot_virus/INSV00_ds.pdf

Errecalde, J. 2004. *Uso de antimicrobianos en animales de consumo: incidencia del desarrollo de resistencias en la salud pública* (en línea). FAO, Roma. Consultado 14 octubre 2005. Disponible en: http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/docrep/007/y5468s/y5468s05.htm

Freundt, E.A. 1974. *The Micoplasmas: Manual of determinative bacteriology*. 8 ed. Baltimore. Williams and Wilkins. 955 p.

García, J.; Flores, A. 2003. *Reporte técnico: punta morada de la papa* (en línea). Red electrónica de la papa, México. Consultado 13 octubre 2005. Disponible en: <http://www.redepapa.org/puntamoradadelapapa.pdf>

García, J.; Rodríguez, R. s.f. *Transmisión y control de la enfermedad punta morada de la papa* (en línea). Red electrónica de la papa, México. Consultado 13 octubre 2005. Disponible en: <http://www.redepapa.org/refugio.pdf>

Gilbertson, R.L.; Hidayat, S.H.; Martinez, R.T.; Leong, S.A.; Fona, J.C.; Morales, E.J.; Maxwell, D.P. 1991. Differentiation of bean infecting geminiviruses by nucleic acid hybridization probes and aspects of bean golden mosaic virus in Brazil. *Plant Dis.* 75:336-342.

Godfrey, L.D.; Haviland, D.R. 2003. *UC IPM Pest management guidelines: Potato* (en línea). University of California. Consultado 9 septiembre 2005. Disponible en: <http://www.ipm.ucdavis.edu/PDF/PMG/pmgpotato.pdf>

Green, S.K.; Kim, J.S. 1991. *Characteristics and control of viruses infecting peppers: a literature review*. Asian Vegetable Research and Development Center. Technical Bulletin No.18. Suweon, Korea. 60 p.

Guerra, M.L. 2000. *Caracterización agronómica y molecular de la reacción de tomate y frijol común a geminivirus*. Tesis Ing. Agr. Honduras, Zamorano. 63 p.

Harris, E. 1998. A low-cost approach to PCR. New York, USA. Oxford University Press. 304 p.

Hilje, L. 2002. Tropical whitefly IPM project: Whitefly status in Latin America (en línea). Consultado 13 octubre 2005. Disponible en: <http://www.tropicalwhiteflyipmproject.cgiar.org/bemisianewsletter13.jsp>

Hilje, L. 1993. Un esquema conceptual para el manejo integrado de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en el cultivo del tomate. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 29:51-57.

Hilje, L.; Arboleda, O. 1993. Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. Eds. CATIE, Turrialba, Costa Rica. Serie Técnica. Informe técnico No. 205. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 66 p.

Howard, F.W.; Harrison, N.A. 1999. Lethal Yellowing of palms (en línea). Consultado 25 julio 2005. Disponible en: http://flrec.ifas.ufl.edu/Hort/Palms/lethal_yellow_facts.htm

Ipochea, T.A. 1980. Compendio de enfermedades de la papa. Centro Internacional de la papa, Lima, Perú. APS Press. 166 p.

Jarvis, W.R.; McKeen, C.W. 2003. Tomato diseases. Departamento de Agricultura y Alimentos de Canadá. Publicación No. 1479

Jones, J.B.; Stall, R.E.; Zitter, T.A. 1997. Compendium of Tomato Diseases. St. Paul, Minnesota, USA. American Phytopathological Society Press. 73 p.

Leyva-López, N.E.; Ochoa-Sánchez, J.C.; Leal Klevezas, D.S.; Martínez-Soriano, J.P. 2002. Multiple phytoplasmas associated with potato diseases in Mexico (en línea). Canadian journal of Microbiology 48(12): 1062-1068.

Martínez, Y.; Deblas, C.; Zabalgoceazcoa, I.; Quiñones, M.; Castellanos, E.L.; Peralta, E.L.; Romero, J. 1999. Taino tomato mottle and Havana tomato geminiviruses (new tomato geminiviruses in Cuba) (en línea). Consultado 3 noviembre 2005. Disponible en: <http://www.agnic.org/pmp/1999/eal1101.html>

Martínez-Soriano, J.P.; Leyva-López, N.E.; Zavala-Soto, M.E.; Bères, M.; Leal-Klevezas D.S. 1999. Detección molecular del agente causal del síndrome "bola de hilo" de la papa en semillas infectadas y asintomáticas (en línea). Biotecnología Aplicada 16:93-96.

Maxwell, D.P.; Nakhla, M.K.; Maxwell, M.D.; Ramirez, P.; Karkashian, J.P.; Doye, M.M.; Roye, M.; McLaughlin, W. 2001. Diversity of begomoviruses and their

management in Latin America. IV Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal. Cuba. 79 p.

Meneses, R.; Uzcategui, R.; Lastra, R. 1989. El virus mosaico amarillo del tomate en Costa Rica. In Reunion APS-CD, Resúmenes 29. Cali, Colombia. 78 p.

Moctezuma, E.V.; Kahl, G. 2000. Huellas de ADN en genomas de plantas: teoría y protocolos de laboratorio. México D.F., México. Mundi prensa. 147 p.

Pluma, R.T.; Mukhopadhyay, S.; Jones, P. 2000. Viruses of crops, weeds in Eastern India. West Bengal, India. IACR-ROTHAMSTED, HERTFORDSHIRE, United Kingdom. s.p.

Polston, J.E.; Schuster, D.J.; Chellemi, D.O. 1993. Advances in the management of tomato mottle geminivirus. Vegetable Crops Special Series, PRO-105. p. 69-76.

Polston, J.E.; McGovern, R.J.; Stansly, A. 1994. Tomato Yellow Leaf Curl Virus (en línea). Consultado 3 noviembre 2005. Disponible en: <http://hammock.ifas.ufl.edu/new/pg08400.htm>

Polston, J.E.; Anderson, P.K. 1997. The Emergence of Whitefly-Transmitted Geminiviruses in Tomato in the Western Hemisphere. Plant Disease 81 (12): 1358-1369.

Polston, J.; Anderson, P. 1999. Surgimiento y distribución de geminivirus transmitidos por mosca blanca en tomate en el Hemisferio Occidental. Revista Manejo integrado de Plagas no. 53. CATIE, Costa Rica.

Pzifer Inc. 2005. Productos agrícolas: Terramicina agrícola (en línea). Consultado 12 octubre 2005. Disponible en: <http://www.pfizerah.com.mx/otherproducts.asp?country=MX&species=AG&lang=SP&drug=PU&spec2=AG#AG>

Ramírez, P.; Bustamante, R. 1996. Identificación de geminivirus. Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. Ed por Luko Hilje. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 30 p.

Rista, L.M. s.f. Enfermedades de cultivos en invernadero: tomate y pimiento (en línea). Universidad Nacional del Litoral, Santa Fé, Argentina. Consultado 10 octubre 2005. Disponible en: <http://fca.unl.edu.ar/intensivos/extensio11.html>

Roca, M.M. 2003. Identificación de virus y fitoplasmas en vegetales en Honduras, Nicaragua y Guatemala. Congreso de la Sociedad Americana de Fitopatología, División Caribe. La Habana, Cuba.

Roca, M.M. 2004. Identificación de virus y fitoplasmas en vegetales en Honduras, Nicaragua y Guatemala. Congreso REDBIO. Punta Cana, República Dominicana.

Rojas, M.R.; Gilbertson, R.L.; Russell, D.R.; Maxwell, D.P. 1993. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. *Plant Dis.* 77:340-347.

Rosset, P.M. 1986. Ecological and economic aspects of pest management and polycultures of tomatoes in Central America. Ph.D. Thesis., Ann Arbor. University of Michigan.

Sander, D. 2001. The big picture book of viruses: Potyviridae (en línea). Consultado 3 noviembre 2005. Disponible en: http://www.virology.net/Big_Virology/BVRNApoty.html

Schaad, N.W.; Jones, J.B.; Chun W. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3 ed. St. Paul, Minnesota, USA. APS Press. 373 p.

Salazar, L.F. s.f. Fitoplasmas: Un factor negativo para la producción de semilla de papa (en línea). Lima, Perú. Consultado 12 septiembre 2005. Disponible en <http://www.condesan.org/e-foros/InfoPapa/papa27.htm>

Sponagel, K.; Funez, M. 1994. Estrategias probadas del manejo del complejo fitosanitario Mosca Blanca/Virus Gemini en la producción de tomate. FHIA, La Lima, Honduras, 46 p.

Spraytec. 1999. Bulletin: Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV) (en línea). Consultado 3 noviembre 2005. Disponible en: <http://www.spraytec.com/articles/tylcv/tylcv.htm>

Wick, R. 2003. Impatiens Necrotic Spot Virus (en línea). University of Massachusetts. Consultado 28 octubre 2005. Disponible en: http://www.umass.edu/umext/floriculture/fact_sheets/pest_management/insvtswv.html

Windham, A.S.; Hale, F.A.; Yanes, J. 1998. Impatiens Necrotic Spot Virus: a serious pathogen of floral crops (en línea). Agricultural Extension Service, University of Tennessee. Consultado 1 noviembre 2005. Disponible en: <http://www.utextension.utk.edu/publications/spfiles/sp370a.pdf>

Zitter, T.A.; Hopkins, D.L.; Thomas, C.E. 1998. Compendium of Cucurbit Diseases. St. Paul, Minnesota, USA. American Phytopathological Society Press. 87 p.

8. ANEXOS

Anexo 1. Protocolo para la extracción de ADN total (planta y viral) de Doyle & Doyle modificado para tomate

1. Colocar en un mortero 600µl de CTAB a 65 °C y 0.01 g de arena de cuarzo ultra pura.
2. Pesar 0.01 g del tejido fresco a extraer, colocarlo en el mortero y macerar con un pistilo hasta que no se observe tejido entero.
3. Transferir la mayor cantidad de producto de maceración a un tubo de microcentrífuga de 1.5 ml.
4. Incubar a 65 °C por 15 min.
5. Añadir 600 µl de cloroformo: alcohol isoamílico 24:1, mezclar bien invirtiendo el tubo.
6. Centrifugar por 10 min. a 10,000 rpm para separar fases.
7. Transferir el sobrenadante a otro tubo de microcentrífuga, evitando la interfase.
8. Añadir 2/3 del volumen de isopropanol frío, invertir suavemente para mezclar bien, incubar a 4 °C por 10 min.
9. Centrifugar por 10 min. a 10,000 rpm.
10. Observar la formación de un precipitado, cuidadosamente decantar el sobrenadante.
11. Adicionar 1000 µl de etanol al 70%, mezclar bien e incubar por 1 min. a temperatura ambiente.
12. Centrifugar por 10 min. a 10,000 rpm.
13. Decantar el sobrenadante y colocar los tubos en una incubadora a 37 °C por 30-60 min. o dejar secar en una cámara de flujo laminar por 30 min.
14. Resuspender el precipitado en 50 µl de TE 0.2X estéril.
15. Almacenar a 4 °C.

Anexo 2: Reactivos para la extracción de ADN

- **Buffer de Extracción CTAB:**

| Reactivos | 1 L | 500 ml |
|---------------------------------|---------|---------|
| CTAB (2%) | 20 g | 10 g |
| NaCl (1.4 M) | 81.82 g | 40.91 g |
| EDTA (20 mM, pH 8) | 5.84 g | 2.92 g |
| Tris-HCL (100 mM, pH 8) | 100 ml | 50 ml |
| PVP – 40 (1%) | 10 g | 5 g |
| β -mercaptoetanol (0.2 %) | 4 ml | 2 ml |

Disolver los reactivos excepto el β -mercaptoetanol en aproximadamente 500 ml de agua destilada aplicando calor. Dejar enfriar a temperatura ambiente, aforar al volumen deseado con agua destilada y ajustar a pH 8 con HCL concentrado.

Esterilizar en la autoclave durante 20 minutos a 120 °C y 15 psi. Dejar enfriar y adicionar el β -mercaptoetanol con mucho cuidado, usando mascarillas, ya que la sustancia es muy tóxica. Se almacena en la incubadora a 65 °C, en un envase bien cerrado para evitar la evaporación.

- **Cloroformo: Alcohol isoamílico 24:1**

| Reactivos | 25 ml | 1 L |
|--------------------|-------|-------|
| Cloroformo | 24 ml | 96 ml |
| Alcohol isoamílico | 1 ml | 4 ml |

- **Etanol al 70%**

| Reactivos | 1 L |
|----------------|-------|
| Etanol | 70 ml |
| Agua destilada | 30 ml |

- **Buffer TE 1X**

| Reactivos | 500 ml | 100 ml |
|--------------------|---------|---------|
| Trizma Base (10mM) | 1.21 g | 0.242 g |
| EDTA (1mM) | 0.185 g | 0.037 g |

Mezclar los reactivos y ajustar pH 8 con HCL. Esterilizar por autoclave y guardar a temperatura ambiente o a 4 °C.

Anexo 3: Electroforesis

- **Buffer TBE 10X**

| Reactivos | 500 ml | 1 L |
|--------------------|--------|--------|
| Tris base | 54 g | 108 g |
| Ácido bórico | 27.5 g | 55 g |
| EDTA (0.5 M, pH 8) | 2.42 g | 4,84 g |

El buffer que se usa en el tanque de electroforesis es TBE 0.5X y se prepara del buffer TBE 10X usando la siguiente fórmula:

$$C_1V_1 = C_fV_f$$

C_1 = Concentración inicial

V_1 = Volumen inicial

C_f = Concentración final

V_f = Volumen final

Para preparar un litro de TBE 0.5X se necesita 50 ml de buffer TBE 10X y se le agrega 950 ml de agua destilada para alcanzar el volumen deseado.

- **Gel de agarosa 0.9%**

| Reactivos | |
|-----------|--------|
| Agarosa | 0.9 g |
| TBE 0.5X | 100 ml |

- **Escalera molecular**

10 μ l de 1Kb "DNA ladder", Casa comercial Sigma

20 μ l de Buffer de carga

70 μ l de Agua destilada estéril

Anexo 4: Protocolos para Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

- **Dideoxinucleótidos 10X (dNTP's)**

| | μl |
|------------------------|---------------|
| Agua destilada estéril | 460 |
| d ATP | 10 |
| d CTP | 10 |
| d GTP | 10 |
| d TTP | 10 |
| Total | 500 μl |

- **Primers**

| Reactivos | |
|----------------------------|-------|
| Solución madre de 1 μg/μl | 1 μl |
| Agua destilada estéril | 39 μl |
| Total de solución 25 ng/μl | 40 μl |

- **Reacción de PCR**

| Reactivos | μl |
|-------------------------------|-------|
| ADN | 0.7 |
| Buffer (10X) | 1 |
| dNTP's (10X) | 1 |
| MgCl ₂ (25 mM) | 0.4 |
| Primer 1 | 0.3 |
| Primer 2 | 0.3 |
| <i>Taq</i> Polimerasa (5u/μl) | 0.07 |
| Agua destilada estéril | 6.23 |
| Volumen final | 10 μl |

Anexo 5: Secuencia de los primers

P1 : 5' - AAG AGT TTG ATC CTG GCT CAG GAT T - 3'

P7 : 5' - CGT CCT TCA TCG GCT CTT - 3'

514 : 5' - ATT ACC GGW TGG CCG C -3'

1048: 5' – GGR TTD GAR GCA TGH GTA CAT G - 3'

Anexo 6: Preparación de Bromuro de Etidio 1:10

| | |
|-------------------|-----------|
| Bromuro de etidio | 1 μ l |
| Agua destilada | 10 ml |

Para la preparación de Bromuro de etidio usar guantes ya que es un producto potencialmente cancerígeno. Agregar el bromuro de etidio al agua destilada y mezclar esta solución en el contenedor designado para ella. Proteger de la luz para evitar la degradación.

Anexo 7: Plan de Aplicaciones de Agroquímicos al cultivo de tomate

• PROMIPAC-El Salvador

Manejo Integrado del cultivo de tomate

PREPARACION DE SEMILLEROS :

BANDEJAS
USO DE PLANTINES

SEMILLEROS PROTEGIDOS

PREPARACION DEL SUELO:

PICADO
INCORPORACION DE MATERIA ORGANICA
INCORPORACION DE CAL Y CENIZA
ENCAMADO

gallinaza
Pirracha
Burri, etc.

Es de hacer notar que luego de la incorporación de cal y mat. organica se debe sostener un riego constante y una remocion cada 4 dias para garantizar la incorporación efectiva de estos materiales.

TRASPLANTE :

REGAR UN DIA ANTES

AHOYAR

DESINFECTAR EL HOYO DE SIEMBRA

- 1- Vidate L 4 copa por bomba y 50 cc por hoyo.
 - 2- Vanodine Fam 6 copas / bomba y 50 cc al hoyo de siembra mojando a baja presión. Esperar una hora para el trasplante.
 - 3- Monarca 1 copa + mancozeb 4 copas por bombada al follage
- SEBRAR AL NIVEL DE LAS HOJAS COTILEDONALES

1 DIAS DESPUES DEL TRASPLANTE :

PRIMERA FERTILIZACION :

Formula soluble 11-60-0 de Tecnigro 6 copas/ bomba y 50 cc por planta

PRIMER CONTROL PREVENTIVO DE PLAGAS :

CONFIDOR 13 gramos/ bomba mezclado con Tecnigro 11-60-0
GRANFOL K 6 COPAS POR BOMBA AL PIE DE LA PLANTA
VINAGRE DE MADERA MEDIO LITRO POR BOMBADA AL PIE

7 DIAS DESPUES DEL TRASPLANTE

SEGUNDA FERTILIZACION:

Formula soluble 11-60-0 de Tecnigro 6 copas/ bomba y 50 cc por planta

SEGUNDO CONTROL PREVENTIVO DE PLAGAS

CONFIDOR 13 gramos/ bomba mezclado con Tecnigro 11-60-0
50 CC POR PLANTA

15 DIAS DESPUES DEL TRASPLANTE :

TERCERA FERTILIZACION :

TECNIGRO 11-60-0 6 COPAS POR PLANTA EN DRENCH

FORMULA 15-15-15 1 COPA POR PLANTA

TERCER CONTROL PREVENTIVO DE PLAGAS :

CONFIDOR 2 medidas confidor/ bomba en drench 50cc/ planta
CUPROSTAR 4 copas por bomba dirigido al follage
GRANFOL K 6 copas por bomba en drench 50 cc por planta
MONARCA 1 copa por bomba al follage

2 DIAS DESPUES DEL TRASPLANTE :**CUARTA FERTILIZACION :**

TECNIGRO 20-18-20 6 COPAS/BOMBA EN DRENCH

CUARTO CONTROL PREVENTIVO DE PLAGAS :

ACTARA 1 SOBRE/ BOMBA EN DRENCH 50 CC POR PLANTA

MONARCA 1 COPA POR BOMBA AL PIE Y AL FOLLAGE

CUPRO STAR 4 COPAS POR BOMBA AL FOLLAGE

GRANFOL K 4 COPAS POR PLANTA AL FOLLAGE

VINAGRE DE MADERA 4 COPAS POR BOMBA AL FOLLAGE

TUTOREO

Iniciar tutoreo con postes de bambú de 2 m. libres y 50 cm enterrados para tomates indeterminados y estacones de 1 metro para los determinados, distanciados a 2 metros entre uno y otro.

Si se manejan solo 2 o 3 ejes es preferible usar el sistema de colgado, utilizando un hilo de alambre galvanizado en la punta de los postes, si se manejaran mas de 3 ejes es mejor el empitado.-

30 DIAS DESPUES DEL TRASPLANTE :**QUINTA FERTILIZACION :**

TECNIGRO 20-18-20 6 COPAS/BOMBA EN DRENCH

TRIPLE 15 2 COPAS POR PLANTA

QUINTO CONTROL PREVENTIVO DE PLAGAS :

MONARCA 1 COPA Y MEDIA POR BOMBA AL FOLLAGE

CURZATE + SURFACID 4 COPAS + 10 CC / BOMBA AL FOLLAGE

CITOZIME CALCIO 2 COPAS POR BOMBA AL FOLLAGE

40 DIAS DESPUES DEL TRASPLANTE :**SEXTA FERTILIZACIÓN**

TECNIGRO 10-05-30 9 COPAS/BOMBA EN DRENCH 50 CC POR PLANTA

SEXTO CONTROL PREVENTIVO DE PLAGAS:

CURZATE + SURFACID 4 COPAS+10CC/ BOMBA APLICACIÓN FOLIAR

50 DIAS DESPUES DEL TRASPLANTE :**SEPTIMA FERTILIZACION :**

TECNIGRO 10-05-30 9 COPAS/BOMBA EN DRENCH 50CC POR PLANTA

FORMULA 0-0-60 1 COPA POR PLANTA AL SUELO

SEPTIMO CONTROL DE PLAGAS Y ENFERMEDADES :

CURZATE + SURFACID 4 COPAS+10 CC/BOMBA AL FOLLAGE

GRANFOL K 4 COPAS POR BOMBA AL FOLLAGE

65 DIAS DESPUES DEL TRASPLANTE :**OCTAVA FERTILIZACION :**

FORMULA 0-0-60 + TRIPLE 15 2 COPAS / PLANTA

CONTROL DE PLAGAS Y ENFERMEDADES :

AVAUNT 6 GRAMOS POR BOMBA

ACROBAT CT 4 COPAS POR PLANTA AL FOLLAGE

CYTOZIME CALCIO 2 COPAS POR BOMBA AL FOLLAGE

80 DIAS DESPUES DE LA SIEMBRA :**NOVENA FERTILIZACION :**

FORMULA 0-0-60 1 COPA POR PLANTA

CONTROL DE PLAGAS Y ENFERMEDADES :

| | |
|-----------|-------------------|
| NOMOLT | 1 COPA POR BOMBA |
| ALIETTE | 4 COPAS POR BOMBA |
| GRANFOL K | 4 COPAS POR BOMBA |

105 DIAS DEL TRASPLANTE :**DECIMA FERTILIZACION :**

| | |
|------------------|--------------------|
| FORMULA 15-15-15 | 2 COPAS POR PLANTA |
|------------------|--------------------|

CONTROL DE PLAGAS Y ENFERMEDADES :

| | |
|-----------------|---------------------|
| NOMOLT | 1 COPA POR BOMBA |
| ACROBAT | 4 COPAS POR BOMBADA |
| CYTOZIME CALCIO | 2 COPAS POR BOMBA |

RECOMENDACIONES :

Las fertilizaciones siempre se harán enterrando el abono, para esto se hacen 2 agujeros uno a cada lado a una distancia de 4 dedos del pie de la planta para lo cual se coloca un estaca con punta .-

Las fumigaciones se hacen siempre temprano por la mañana, es necesario usar un adherente como el jabón de aceituna, el cual se prepara deshaciendo una pelota de jabón en un galón de agua, y de esta solución se usará una pacha por bombada, si no encuentra jabón de aceituna utilice surfacid 10 cm por bomba de 4 galones.

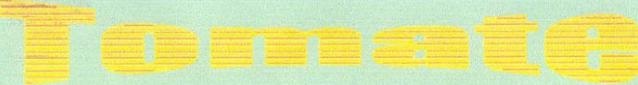
El tomate necesita ser podado cuando es de crecimiento indeterminado, para lo cual se eliminan todos los brotones abajo del primer ramo de flores, para una mejor forma se eliminan cuando están pequeños, se puede usar una navaja bien afilada aunque si están pequeños y tiernos se pueden cortar fácilmente con la mano, cuando se usa navaja se usa una solución de lejía, una cucharadita de lejía en un vaso de agua, esto sirve para desinfectar la navaja o guillette para no pasar enfermedades de una planta a otra .-

Las aplicaciones de insecticidas o fungicidas se pueden hacer en menor tiempo de lo recomendado aquí, dependiendo del grado de infección o infestación que presenten, siguiendo con la recomendación del fabricante en el panfleto del producto.-

• FINTRAC CDA

| SEMANA | | INSECTICIDA | | FUNGICIDA | | FERTILIZANTE Foliar y Adherente | | VOLUMEN DE AGUA | | |
|--------|----------------|--|--------|--------------|----------------|---|--------|-----------------|----------------|-----------------|
| DDT | FECHA | DOSIS/ Barril | Unidad | Reingreso Hr | Dias a Cosecha | DOSIS/ Barril | Unidad | Reingreso Hr | Dias a Cosecha | VOLUMEN DE AGUA |
| 3 | 1 4-Jan-05 | 3.8 Carbofuran 48% | Lt | 48 | 30 | 240.0 Tricho zam | g | 109 | 30 | 100 |
| 12 | 2 13-Jan-05 | 400.0 Actara 25 WG D Thiamethoxam 25% Evisec 50 SP Oxalate 50% | g | 12 | 30 | 67.0 Amistar 50 WG Azoxystrobin 50% Vondozeb 80 WP Mancozeb 80% | g | 4 | 4 | 200 |
| 19 | 3 20-Jan-05 | 300.0 Danitol 2.4 EC Fenprothrin | ml | 24 | 7 | 1.0 Vondozeb 80 WP Mancozeb 80% | Kg | 24 | 4 | 300 |
| 26 | 4 27-Jan-05 | 400.0 Actara 25 WG D Thiamethoxam 25% Evisec 50 SP Oxalate 50% | g | 12 | 30 | 550.0 Bravo Ultrex Clorotalonilo 82.5% | g | S | 7 | 400 |
| 33 | 6 3-Feb-05 | 25.0 Tracer 48 SC Spinosad 44.2% | ml | 4 | 3 | 67.0 Amistar 50 WG Azoxystrobin 50% | g | 4 | 4 | 500 |
| 40 | 6 10-Feb-05 | 400.0 Actara 25 WG D Thiamethoxam 25% Evisec 50 SP Oxalate 50% | g | 12 | 30 | 1.0 Vondozeb 80 WP Mancozeb 80% | Kg | 24 | 4 | 600 |
| 47 | 7 17-Feb-05 | 300.0 Danitol 2.4 EC Fenprothrin | ml | 24 | 7 | 550.0 Bravo Ultrex Clorotalonilo 82.5% | g | S | 7 | 600 |






Productor Luis Flores **Tecnico** Marcko Theodoracopoulos **Zona** La Esperanza
Finca El Hibrado **Lote** 1
Fecha de Transplante 1-Jan-05 **Area Ha.** 1.00

| SEMANA | INSECTICIDA | DOSIS/ Barril | Unidad | Reingreso Hr | Dias a Cosecha | FUNGICIDA | DOSIS/ Barril | Unidad | Reingreso Hr | Dias a Cosecha | FERTILIZANTE Foliar y Adherente | DOSIS/ Barril | Unidad | Reingreso Hr | Dias a Cosecha | VOLUMEN DE AGUA Lts |
|--------|-----------------|---------------------------------|--------|--------------|----------------|-----------|---|----------------|--------------|----------------|--|--|------------------------------|--------------------|----------------|---------------------|
| DDT | FECHA | | | | | | | | | | | | | | | |
| 54 | 8 24-Feb-05 | Tracer 48 SC Spinosad 44.2% | 25.0 | ml | 4 | 3 | Amistar 50 WG Azoxytrobin 50% | 67.0 | g | 4 | Vitamina para humanos Azúcar Glucosa Acido Salicilico 1 Acido Salicilico 95% Adherente B10 Nonifenol poliglicol eter | 30.0 5.0 50.0 300.0 | g Kg g ml | | | 600 |
| 61 | 9 3-Mar-05 | Evisec 50 SP Oxalate 50% | 200.0 | g | 24 | 14 | Vondozeb 80 WP Mancozeb 80% | 1.0 | Kg | 24 | 4 | Vitamina para humanos Azúcar Glucosa Adherente B10 Nonifenol poliglicol eter | 30.0 5.0 50.0 300.0 | g Kg g ml | S | 600 |
| 68 | 10 10-Mar-05 | Danitol 2.4 EC Fenpropathrin | 300.0 | ml | 24 | 7 | Bravo Ultrex Clorotalonilo 82.5% Trichozam 109 | 550.0 240.0 | g g | S | 7 | Vitamina para humanos Azúcar Glucosa Acido Salicilico 1 Acido Salicilico 95% Adherente B10 Nonifenol poliglicol eter | 30.0 5.0 50.0 300.0 | g Kg g ml | S | 600 |
| 75 | 11 17-Mar-05 | Evisec 50 SP Oxalate 50% | 200.0 | g | 24 | 14 | Amistar 50 WG Azoxytrobin 50% | 67.0 | g | 4 | Vitamina para humanos Azúcar Glucosa Adherente B10 Nonifenol poliglicol eter | 30.0 5.0 50.0 300.0 | g Kg g ml | S | 600 | |
| 82 | 12 24-Mar-05 | Tracer 48 SC Spinosad 44.2% | 25.0 | ml | 4 | 3 | Vondozeb 80 WP Mancozeb 80% | 1.0 | Kg | 24 | 4 | Vitamina para humanos Azúcar Glucosa Acido Salicilico 1 Acido Salicilico 95% Adherente B10 Nonifenol poliglicol eter | 30.0 5.0 50.0 300.0 | g Kg g ml | S | 600 |
| 89 | 13 31-Mar-05 | Danitol 2.4 EC Fenpropathrin | 300.0 | ml | 24 | 7 | Bravo Ultrex Clorotalonilo 82.5% | 550.0 | g | S | 7 | Vitamina para humanos Azúcar Glucosa Adherente B10 Nonifenol poliglicol eter | 30.0 5.0 50.0 300.0 | g Kg g ml | S | 600 |
| 96 | 14 7-Apr-05 | Evisec 50 SP Oxalate 50% | 200.0 | g | 24 | 14 | Vondozeb 80 WP Mancozeb 80% | 1.0 | Kg | 24 | 4 | Vitamina para humanos Azúcar Glucosa Acido Salicilico 1 Acido Salicilico 95% Adherente B10 Nonifenol poliglicol eter | 30.0 5.0 50.0 300.0 | g Kg g ml | S | 600 |
| 103 | 16 14-Apr-05 | Proclaim 5 SG 5% | 75.0 | g | 24 | 30 | Bravo Ultrex Clorotalonilo 82.5% | 550.0 | g | S | 7 | Vitamina para humanos Azúcar Glucosa Adherente B10 Nonifenol poliglicol eter | 30.0 5.0 50.0 300.0 | g Kg g ml | S | 600 |

+ Todas las aplicaciones son opcionales dependiendo que se encuentre en el muestreo NO ES OBLIGATORIO

+ (D) es una aplicación drench o al suelo o por el sistema de goteo

+ Los Productos que están en Amarillo son por el sistema o la dosis es por hectarea

+ 1 el acido salicilico se debe de aplicar solo

+ En amarillo son los días de aplicación

+ S se puede ingresar cuando el producto haya secado

Rosa B

Preparado y Autorizado Por

| DDT | SEMANA | INSECTICIDA | DOSIS/ Barril | Unidad | Reingreso Hr | Dias a Cosecha | FUNGICIDA | DOSIS/ Barril | Unidad | Reingreso Hr | Dias a Cosecha | FERTILIZANTE Foliar y Adherente | DOSIS/ Barril | Unidad | Reingreso Hr | Dias a Cosecha | VOLUMEN DE AGUA Lts |
|-----|--------|-------------|------------------|--------|--------------|----------------|-----------|------------------|--------|--------------|----------------|------------------------------------|------------------|--------|--------------|----------------|---------------------------|
|-----|--------|-------------|------------------|--------|--------------|----------------|-----------|------------------|--------|--------------|----------------|------------------------------------|------------------|--------|--------------|----------------|---------------------------|

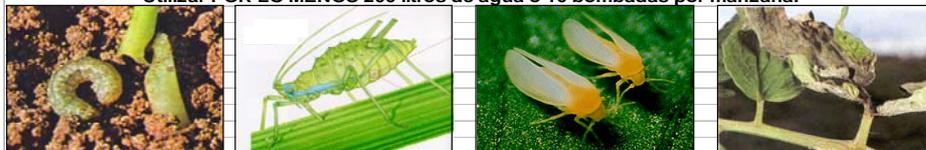
+ Todos los fungicidas son opcionales por que pueden cambiar pero siempre se debe de usar un producto de de contacto como preventivo. En los insecticidas se aplica si en el muestreo se encuentra plagas pero no en las enfermedades.

+ Siempre usar un duido para bajar el pH del agua de aplicacón a un pH de 5 a 6. Siempre usar adherente: invierno o verano.

MSc Ricardo D. Lardizábal

• **BAYER-NICARAGUA**

| Programa para la protección cultivo de Tomate | | |
|---|--|---|
| Producto | Dosis por bomba | Aplicación |
| Prevención de virosis (Mosca Blanca y Aíidos o Pulgones) y punta morada (Paratrízoza) | | |
| Semillero | | |
| Confidor 70 WG | 2 medidas Confidor por regadera de 4 galones | Aplicarlo con regadera en 9 M ² de semillero y para plantas pioneras en invernadero, 36 M ² de bandeja después de tapar la semilla. Realizar otra aplicación 25 días después de la primera. |
| Prevención y control de mal del talluelo - Damping Off | | |
| Previcur 72 SL | 30 cc | En semillero aplicar 3-4 litros de mezcla por M ² . Agregarle 20 cc de Carbendazim a la mezcla. |
| Prevención y control de plagas de suelo: Control de Nematodos, Gallina Ciega, Gusano alambre y Cuerudo. | | |
| Mocap 15 GR | 15 Kg / Mz - 1 gramo / Planta | Aplicarlo al fondo del surco antes del trasplante o en banda a los 3-8 días después de sembrado. Excelente efecto nematocida. |
| Jade 0.8 GR | 11 Kg / Mz - 1 gramo / Planta | Aplicarlo para el control de gallina ciega, gusano alambre, diabrotica. Aplicación antes o después de trasplante. Si se aplica después de la siembra debe de ser en banda incorporado. Aplicarlo con buena humedad. |
| Prevención de virosis (Mosca Blanca y Aíidos o Pulgones) y punta morada (Paratrízoza) | | |
| Plantación | | |
| Confidor 70 WG | 2 medidas Confidor | Aplicarlo a los 1 - 3 días después de trasplante. Aplicar 25 cc de solución al pie de cada planta. Es necesario que exista buena humedad en el suelo antes y después de la aplicación. Controla insectos de suelo. |
| Plural 20 SL | 2 Copas Bayer | Controla Mosca Blanca y Aíidos. Alternarlo con Oberon o Monarca |
| Oberon 24 SC | 20 cc | Controla huevos, ninfas y adultos de Mosca Blanca, Paratrízoza y Ácaros. |
| Monarca 11,25 SE | 1 Copa Bayer | Aplicarlo cada 8 a 15 días. Controla Mosca Blanca, Gusano del Fruto, minadores, tortuguilla, etc. |
| Muralla 10 EC | 1 Copa Bayer | Aplicarlo cada 8 a 15 días. Controla Mosca Blanca, Gusano del Fruto, minadores, tortuguilla, etc. |
| Gusano del Fruto (Heliothis spp.) Gusano Soldado (Spodoptera spp.) Diaphania. | | |
| Larvin 37.5 SC | 1 Copa Bayer | Por ser ovicida puede ser aplicado antes que aparezcan las primeras larvas o bien cuando esten pequeñas. No se recomienda mezclarlo con cobre ni mancozeb. |
| Decis Tab 2.5 TB | 1-2 tabletas | Aplicarlo cada 8 a 15 días. Amplio espectro de control. |
| Trozadores ó Nocheros | | |
| Baytroid 2.5 EC | 1/2 Copa Bayer | Aplicar un chorro (Drench) al tronco de las plantas. Se puede mezclar con Confidor al día 12 DDT |
| Programa Preventivo de Enfermedades Tizon Tardío (Phytophthora infestans) Tizon Temprano (Alternaria solani) | | |
| Antracol 70 WP | 6 - 8 Copas Bayer | Aplicarlo cada 7 días para prevenir el ataque de Tizonos |
| Cupravit Verde 50 WP | 5 Copas Bayer | Aplicarlo cada 6-8 días de forma preventiva. No se recomienda mezclarlo con Larvin. |
| Euparen 50 WP | 5-7 Copas Bayer | De una manera preventiva y en condiciones de baja presión de la enfermedad en intervalos de 5 a 10 días. |
| Programa preventivo y curativo contra Tizon Tardío y pata prieta (Phytophthora spp.) y mal del talluelo (Phytophthora spp.) | | |
| Previcur 72 SL | 30 cc | Contra problemas de Mal del Talluelo, agregarle 20 cc de Carbendazim por bomba. Aplicar 50 cc de la solución al pie de la planta. Al apareamiento del tizon tardío después del uso de Positron o Sereno. Alternarlo con Antracol o Euparen. |
| Positron Duo 69 WP | 1 sobre de 60 gramos | Aplicar al apareamiento del Tizon Tardío, Temprano, Mancha Foliar Gris un bloque de 2 aplicaciones cada 5 - 10 días, dependiendo de la incidencia de la enfermedad. |
| Sereno 60 WG | 1 sobre o 2 copas Bayer | Aplicarlo en ciclos de 2 aplicaciones con intervalos de 5 - 10 días dependiendo de la incidencia de la enfermedad |
| Aliette 80 WG | 3-4 Copas Bayer | Aplicarlo desde el inicio del cultivo en forma preventiva para inducir las defensas naturales de la planta. Aplicarlo cada 15 días. |
| <i>No aplicar estos productos más de 4 veces por ciclo de cultivo</i> | | |
| Programa preventivo y curativo contra Tizon Temprano (Alternaria solani) Moho Blanco (Sclerotium spp.) Podredumbre Griz (Botritis cinerea) Mancha de la Hoja (Cercospora spp.) Mal del Talluelo (Fusarium y Rhizoctonia) | | |
| Silvacur Combi 30 EC | 3/4 Copa Bayer | Aplicar a partir de 25 días después del trasplante con intervalo de 15 días alternado con Rovral. Para enfermedades de la raíz aplicar al pie de la planta (drench) |
| Flint 50 WG | 1/2 Copa Bayer | Aplicar a partir de 20 días después del trasplante con intervalo de 10-15 días alternado con Silvacur. |
| Fertilización Foliar | | |
| Bayfolan Forte SL | 4-6 Copas Bayer | Antes y durante la floración, aplicar cada 7 días |
| Control de Malezas | | |
| Basta 15 SL | 6-8 Copas Bayer | Herbicida NO SELECTIVO de control total. Aplicar sobre la calle del cultivo antes que cierre calle, de preferencia con pantalla. Si el problema es coyollito utilizar la dosis máxima. |
| Sencor 70 WP | 4 Copas Bayer | Aplicarlo al suelo húmedo en el surco y calle después del aporque. Controla hojas anchas y Gramíneas anuales. Selectivo al cultivo. |
| Adherente 810 SL | | |
| Adherente 810 SL | 1 Copa Bayer para Insecticidas, Fungicidas y Abonos Foliare. 2 Copas Bayer para Herbicidas | Adherente, penetrante, dispersante y emulsificante. Mejora la efectividad de los Protectores de Cultivos. Agregarlo en todas las aspersiones. |
| 1 medida Confidor pesa: 6.5 gramos | | |
| 1 Copa Bayer = 25 cc | | |
| DDT= Días Después de Trasplante | | |
| Utilizar POR LO MENOS 200 litros de agua o 10 bombadas por manzana. | | |



Anexo 8: Fichas de información**VIRUS****■ Potyvirus**

- Virus del mosaico de la sandía 1
- Virus del mosaico de la sandía 2
- Virus del mosaico amarillo del zucchini
- Virus del moteado del chile
- Virus del grabado del tabaco
- Virus “Y” de la papa

■ Geminivirus

- Virus de las hojas amarillas enrolladas del tomate
- Chino del tomate
- Virus del tomate de la Havana
- Virus del chile de Texas

■ Cucumovirus

- Virus del mosaico del pepino

■ Tospovirus

- Virus de la marchitez manchada del tomate
- Impatiens necrotic spot virus

■ Tobamovirus

- Virus del mosaico del tabaco
- Virus del mosaico del tomate
- Virus del moteado leve del chile

FITOPLASMAS

- Punta morada de la papa

VIRUS DEL MOSAICO DE LA SANDÍA 1

Grupo: Potyvirus



- **Nombre en inglés: Watermelon mosaic virus 1 (WMV 1).** También conocido como **Papaya ringspot virus tipo W (PRSV-W)**. El tipo P (PRSV-P) afecta a papaya y cucurbitáceas; el tipo W afecta a cucurbitáceas pero no a papaya (Zitter *et al.* 1998).
- **Tipo de ácido nucleico:** ARN de cadena simple

Figura 1. Partículas de un potyvirus.

Fuente: Sander *et al.* 2001

- **Síntomas:** Los síntomas varían mucho ya que pueden existir infecciones mixtas. En general, se observa que el follaje de plantas infectadas presenta un mosaico verde, malformación, arrugamiento, ampollamiento, distorsión y estrechamiento de la lámina foliar. En el fruto causa malformaciones como protuberancias y excesivo crecimiento (Zitter *et al.* 1998).
- **Distribución geográfica:** Ha sido reportado en Estados Unidos, China, México, Honduras, el Caribe, Australia, Alemania, Francia, Italia, India y América del Sur.
- **Rango de hospederos:** Es reducido. Alrededor de 38 especies en 11 géneros de cucurbitáceas y dos especies de *Chenopodiaceae*, siendo los hospederos naturales de importancia económica el zapallo, sandía (*Citrullus lanatus*), pepino (*Cucumis sativus*) y melón (*Cucumis melo*) (Brunt *et al.* 1996).
- **Transmisión:** Alrededor de 20 especies de áfidos incluyendo *Myzus persicae* y *Aphis gossypii*. La transmisión es de tipo no persistente que significa, que el insecto es capaz de adquirir el virus de una planta enferma en poco tiempo (minutos), transmite el virus a plantas sanas pero pierde rápidamente la capacidad de transmitirlo (minutos). La relación del virus y el vector es temporal (Agrios 1995). Se transmite fácilmente mecánicamente y no se ha reportado transmisión por semilla. En regiones calientes el virus sobrevive fácilmente en cucurbitáceas silvestres (*Melothria pendula*, *Momordica sp.*, y otras cucurbitáceas perennes) (Zitter *et al.* 1998).
- **Manejo:**
 - **Manejo químico del vector:** Uso de insecticidas y aceites para controlar áfidos pero aplicados en malezas hospederas (CATIE 1993, Jones *et al.* 1997) para evitar

la llegada de áfidos al cultivo porque una vez establecido el cultivo el áfido logra transmitir el virus antes de morir.

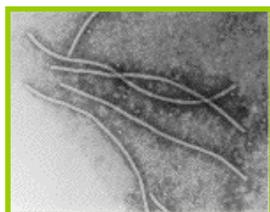
- **Prácticas culturales:** Incorporación de residuos de cultivos anteriores. En lo posible evitar cultivos escalonados, de no ser posible, sembrar los cultivos escalonados de tal forma que el más viejo quede más alejado y en contra de la dirección del viento. Uso de barreras vivas alrededor de la plantación que impida la llegada de áfidos a la plantación y donde éstos limpian su estilete. Control de malezas hospederas alrededor de la plantación antes de establecer el cultivo (Zitter *et al.* 1998). Desinfección de herramientas y manos del personal que realice labores en el cultivo como amarre y tutoreo, para evitar transmisión entre plantas.



Figura 2. Síntomas de WMV 1
Fuente: Universidad de Cornell

“VIRUS DEL MOSAICO DE LA SANDIA 2”

Grupo: Potyvirus



- **Nombre en inglés:** “Watermelon mosaic virus 2 (WMV 2)”
- **Tipo de ácido nucleico:** ARN de cadena simple.

Figura 3. Partículas de un potyvirus.

Fuente: Sander *et al.* 2001

- **Síntomas:** En general en las hojas causa mosaico verde, anillos cloróticos, rugosidad, bandas verdes y malformación. En melón, pepino, calabaza, zapallo y sandía causa mosaicos y moteados y reducción en la producción de fruta y calidad. Algunos cultivares de *Cucurbita pepo* (calabaza) y *Cucumis melo* (melón) responden con síntomas muy severos en el follaje, similares a los ocasionados por Watermelon mosaic virus 1 y Zucchini yellow mosaic virus (Zitter *et al.* 1998).
- **Distribución geográfica:** Se ha reportado en todo el mundo.
- **Rango de hospederos:** Son susceptibles 160 especies dicotiledóneas en 23 familias, incluyendo cucurbitáceas. Ocurre naturalmente en varias leguminosas, malváceas, chenopodiáceas, plantas ornamentales y cultivadas (Zitter *et al.* 1998).
- **Transmisión:** Es transmitido por 29 especies de áfidos incluyendo *Myzus persicae*. La transmisión es de tipo no persistente que significa, que el insecto es capaz de adquirir el virus de una planta enferma en poco tiempo (minutos), transmite el virus a plantas sanas pero pierde rápidamente la capacidad de transmitirlo (minutos). La relación del virus y el vector es temporal (Agrios 1995). **Es fácilmente transmitido mecánicamente** y no hay evidencia de transmisión por semilla en cucurbitáceas y leguminosas (Brunt *et al.* 1996).
- **Manejo:**
 - **Manejo químico del vector:** Uso de insecticidas y aceites para controlar áfidos pero aplicados en malezas hospederas (CATIE 1993, Jones *et al.* 1997) para evitar la llegada de áfidos al cultivo porque una vez establecido el cultivo el áfido logra transmitir el virus antes de morir.
 - **Prácticas culturales:** Incorporación de residuos de cultivos anteriores. En lo posible evitar cultivos escalonados, de no ser posible, sembrar los cultivos escalonados de tal forma que el más viejo quede más alejado y en contra de la

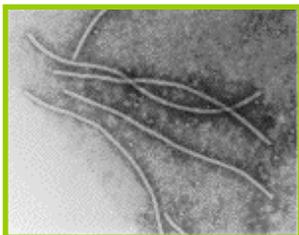
dirección del viento. Uso de barreras vivas alrededor de la plantación que impida la llegada de áfidos a la plantación y donde éstos limpian su estilete. Control de malezas hospederas alrededor de la plantación antes de establecer el cultivo (Zitter *et al.* 1998). Desinfección de herramientas y manos del personal que realice labores en el cultivo como amarre y tutoreo, para evitar transmisión entre plantas.



Figura 4. Síntomas de WMV 2
Fuente: Universidad de Cornell

VIRUS DEL MOSAICO AMARILLO DEL ZUCCHINI

Grupo: Potyvirus



- **Nombre en inglés:** “Zucchini yellow mosaic virus” (ZYMV)
- **Tipo de ácido nucleico:** ARN de cadena simple

Figura 5. Partículas de un potyvirus.

Fuente: Sander *et al.* 2001

- **Síntomas:** Son más afectados *Cucurbita pepo*, *Cucumis melo* y *Citrullus lanatus*. En las hojas se presentan mosaicos amarillentos, malformación severa, reducción extrema en el tamaño de la lámina foliar, necrosis, aspecto filiforme, achaparramiento, deformaciones severas de frutos y semillas; grietas longitudinales en los frutos de melón y sandía (Agrios 1995). En los trópicos ZYMV está asociada con PRSV-W (Zitter *et al.* 1998).
- **Distribución geográfica:** Reportado en Francia, Italia, Marruecos, España, Alemania, Israel, Líbano, Estados Unidos, Egipto, Australia, Algeria, Turquía, Japón, Jordán, Taiwan y Las islas Mauricio (Brunt *et al.* 1996).
- **Rango de hospederos:** Incluye miembros de las familias *Aizoaceae*, *Amaranthaceae*, *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Chenopodiaceae*, *Compositae*, *Cucurbitaceae*, *Labiatae*, *Leguminosae*, *Ranunculaceae*, *Scrophulariaceae*, *Solanaceae* y *Umbelliferae* (Zitter *et al.* 1998).
- **Transmisión:** Se transmite por 38 especies de áfidos, incluyendo *Aphis citricola* Patch, *A. gossypii*, *Macrosiphum euphorbiae* y *Myzus persicae*. La transmisión es de tipo no persistente que significa, que el insecto es capaz de adquirir el virus de una planta enferma en poco tiempo (minutos), transmite el virus a plantas sanas pero pierde rápidamente la capacidad de transmitirlo (minutos). La relación del virus y el vector es temporal (Agrios 1995). **Se transmite fácilmente mecánicamente** y hay cierta evidencia de transmisión por semilla pero ha sido muy difícil probar (Plumb *et al.* 2000).
- **Manejo:**
 - **Manejo químico del vector:** Uso de insecticidas y aceites para controlar áfidos pero aplicados en malezas hospederas (CATIE 1993, Jones *et al.* 1997) para evitar la llegada de áfidos al cultivo porque una vez establecido el cultivo el áfido logra transmitir el virus antes de morir.

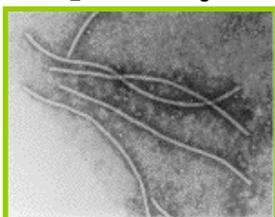
- **Prácticas culturales:** Incorporación de residuos de cultivos anteriores. En lo posible evitar cultivos escalonados, de no ser posible, sembrar los cultivos escalonados de tal forma que el más viejo quede más alejado y en contra de la dirección del viento. Uso de barreras vivas alrededor de la plantación que impida la llegada de áfidos a la plantación y donde éstos limpian su estilete. Control de malezas hospederas alrededor de la plantación antes de establecer el cultivo (Zitter *et al.* 1998). Desinfección de herramientas y manos del personal que realice labores en el cultivo como amarre y tutoreo, para evitar transmisión entre plantas.



Figura 6. Síntomas de ZYMV
Fuente: Universidad de Illinois

VIRUS DEL MOTEADO DEL CHILE

Grupo: Potyvirus



- **Nombre en inglés:** “Pepper mottle virus” (PepMoV).
- **Tipo de ácido nucleico:** ARN de cadena simple.

Figura 7. Partículas de un potyvirus.

Fuente: Sander *et al.* 2001

- **Síntomas:** Los síntomas son muy variables y más aún con la existencia de infecciones mixtas, en general se observan severos moteados en la hoja, deformación y las venas se vuelven más verdes. En *Capsicum frutescens* (chile tabasco) causa anillos necróticos en el tallo y hojas produciendo un nuevo crecimiento distorsionado con mosaico (Black *et al.* 1991).
- **Distribución geográfica:** El Salvador, India y es común en zonas de los Estados Unidos como Florida, Nuevo México, Texas, Arizona y California (Brunt *et al.* 1996).
- **Rango de hospederos:** Es reducido. Aparentemente reducido a la familia Solanaceae, especialmente *Capsicum* y *Nicotiana* (Black *et al.* 1991) y afecta también a *Lycopersicon esculentum* (tomate).
- **Transmisión:** Es transmitido por varias especies de áfidos, incluyendo *Aphis gossypii*, *A. craccivora*, *Myzus persicae*. La transmisión es de tipo no persistente que significa, que el insecto es capaz de adquirir el virus de una planta enferma en poco tiempo (minutos), transmite el virus a plantas sanas pero pierde rápidamente la capacidad de transmitirlo (minutos). La relación del virus y el vector es temporal (Agris 1995). Es transmitido por inoculación mecánica y por injerto; **no se transmite por contacto entre plantas y no se transmite por semilla** (Brunt *et al.* 1996).
- **Manejo:**
 - **Manejo químico del vector:** Uso de insecticidas y aceites para controlar áfidos aplicados en malezas hospederas cuando éstas no pueden eliminarse (CATIE 1993, Jones *et al.* 1997) para evitar la llegada de áfidos al cultivo, cuando los áfidos están en el cultivo no es efectivo. Uso de cultivos trampa donde se realicen aplicaciones de insecticidas para controlar áfidos (CATIE 1993).
 - **Prácticas culturales:** Uso de barreras vivas alrededor de la plantación que impida la llegada de áfidos a la plantación y donde éstos limpian su estilete. Control de malezas hospederas alrededor de la plantación antes de establecer el cultivo. En lo

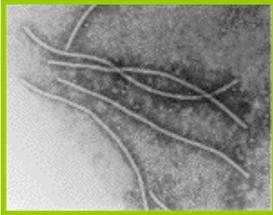
posible sembrar alejado de lotes viejos e incorporar rastrojos de cultivos anteriores. En lo posible sembrar en áreas con baja incidencia de áfidos y reservorios del virus (Jones *et al.* 1997).



Figura 8. Síntomas de PepMoV
Fuente: Universidad de Arizona

VIRUS DEL GRABADO DEL TABACO

Grupo: Potyvirus



- **Nombre en inglés:** “Tobacco etch virus” (TEV)
- **Tipo de ácido nucleico:** ARN de cadena simple.

Figura 9. Partículas de un potyvirus.

Fuente: Sander *et al.* 2001

- **Síntomas:** En las hojas causa un mosaico, bandas de color verde grisáceo en las venas, deformación, abultamiento en hojas y venas; enanismo de la planta, los frutos se deforman y tienen zonas amarillas con manchas o franjas (CATIE 1993). En *Capsicum frutescens* (chile tabasco) las plantas se marchitan y mueren de una a dos semanas después de la infección por el virus (Black *et al.* 1991).
- **Distribución geográfica:** América (Canadá, México, Puerto Rico, Estados Unidos), China y el Sudeste de Asia. Ha ocasionado grandes pérdidas en tomate en Venezuela y el sur de Florida (Jones *et al.* 1997).
- **Rango de hospederos:** Alrededor de 120 especies en 19 familias de dicotiledóneas son susceptibles. Es más común en Solanáceas, especialmente tomate, chile y tabaco. Las malezas más importantes que sirven como fuente de inóculo del virus son *Solanum nigrum*, *S. aracile*, *Physalis arguluta*, *P. aranicola*, *P. aliosa* y *Chenopodium album* (Black *et al.* 1991).
- **Transmisión:** Se transmite por más de 10 especies siendo el más importante *Myzus persicae*. La transmisión es de tipo no persistente que significa, que el insecto es capaz de adquirir el virus de una planta enferma en poco tiempo (minutos), transmite el virus a plantas sanas pero pierde rápidamente la capacidad de transmitirlo (minutos). La relación del virus y el vector es temporal (Agrios 1995). Se transmite por inoculación mecánica y **no se transmite por semilla** (CATIE 1993).
- **Manejo:**
 - **Manejo químico del vector:** Uso de insecticidas y aceites para controlar áfidos aplicados en malezas hospederas cuando éstas no pueden eliminarse (CATIE 1993, Jones *et al.* 1997) para evitar la llegada de áfidos al cultivo porque una vez presentes áfidos en la plantación no es efectivo. Uso de cultivos trampa donde se realicen aplicaciones de insecticidas para controlar áfidos (CATIE 1993).

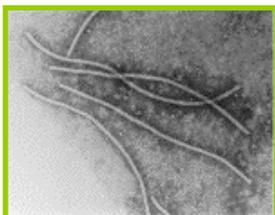
- **Prácticas culturales:** Uso de barreras vivas alrededor de la plantación que impida la llegada de áfidos a la plantación y donde éstos limpian su estilete. Control de malezas hospederas alrededor de la plantación antes de establecer el cultivo. En lo posible sembrar alejado de lotes viejos e incorporar rastrojos de cultivos anteriores. En lo posible sembrar en áreas con baja incidencia de áfidos y reservorios del virus (Jones *et al.* 1997). Desinfección de herramientas y manos del personal al realizar labores de manipuleo de plantas como amarre para evitar la transmisión entre plantas (CATIE 1990).



Figura 10. Síntomas de TEV
Fuente: Universidad de la Florida

VIRUS “Y” DE LA PAPA

Grupo: Potyvirus



- **Nombre en inglés:** “Potato virus Y” (PVY)
- **Tipo de ácido nucleico:** ARN de cadena simple

Figura 11. Partículas de un potyvirus.

Fuente: Sander *et al.*, 2001

- **Síntomas:** Ocasiona achaparramiento de la planta con un moteado generalizado, áreas amarillas y verdes de diferentes tonalidades, abultamiento de hojas y venas, una leve distorsión; los frutos se deforman y tienen zonas amarillas con franjas o manchas (CATIE 1993). En ocasiones las hojas se enrollan hacia abajo (Jones *et al.* 1997).
- **Distribución geográfica:** Se ha reportado en todo el mundo. Causa grandes problemas en la producción de tomate en el Sur de Florida, Guadeloupe, Australia, Taiwan, Argentina, Francia y varios países mediterráneos (Jones *et al.* 1997). El PVY es considerado el virus más diseminado e importante en Centroamérica, afectando al Chile (CATIE 1993).
- **Rango de hospederos:** Es reducido a las solanáceas como tomate, chile, papa y tabaco, pero algunos miembros de las familias *Amaranthaceae*, *Chenopodiaceae*, *Compositae* y Leguminosae son susceptibles (Jones *et al.* 1997). El PVY es capaz de infectar sistémicamente a *Chenopodium amaranticolor* y *Datura stramonium* (CATIE 1993).
- **Transmisión:** Es transmitido por áfidos principalmente: *Myzus persicae*, *Aphis gossypii*, *Macrosiphum euphorbiae* y *A. nasturtii*. La transmisión es de tipo no persistente que significa, que el insecto es capaz de adquirir el virus de una planta enferma en poco tiempo (minutos), transmite el virus a plantas sanas pero pierde rápidamente la capacidad de transmitirlo (minutos). La relación del virus y el vector es temporal (Agrios 1995). **También se transmite por el ácaro *Tetranychus telarius*** (CATIE 1990). Se transmite mecánicamente y **no se transmite por semilla.**
- **Manejo:**
 - **Manejo químico del vector:** Uso de insecticidas y aceites para controlar áfidos aplicados en malezas hospederas cuando éstas no pueden eliminarse (CATIE 1993, Jones *et al.* 1997) para evitar la llegada de áfidos al cultivo. Uso de cultivos

trampa donde se realicen aplicaciones de insecticidas para controlar áfidos (CATIE 1993).

- **Prácticas culturales:** Uso de barreras vivas alrededor de la plantación que impida la llegada de áfidos a la plantación y donde éstos limpian su estilete. Control de malezas hospederas alrededor de la plantación antes de establecer el cultivo. En lo posible sembrar alejado de lotes viejos e incorporar rastrojos de cultivos anteriores. En lo posible sembrar en áreas con baja incidencia de áfidos y reservorios del virus (Jones *et al.* 1997). Desinfectar herramientas y manos del personal que realice labores de manipuleo de plantas como amarre para evitar la transmisión entre plantas (CATIE 1990).



Figura 12. Síntomas de PVY
Fuente: Universidad de Georgia

VIRUS DE LAS HOJAS AMARILLAS ENROLLADAS DEL TOMATE

Grupo: Geminivirus (Begomovirus)



- **Nombre en inglés:** Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV).
- **Tipo de ácido nucleico:** ADN de cadena simple.

Figura 13. Partículas de un geminivirus.

Fuente: Ramírez y Bustamante (1996).

- **Síntomas:** En las hojas causa márgenes cloróticos, enanismo, acucharamiento y engrosamiento del tejido produciendo rigidez. En general causa enanismo y brotes terminales "arrepollados". En el fruto produce bajo cuajado por la abscisión de flores (Spraytec 1999), y causa importantes pérdidas en la industria tomatera.
- **Distribución geográfica:** Se ha reportado en varios países de la cuenca del Mediterráneo, incluyendo Israel, Irak, Líbano, Jordania, Arabia Saudita, Nigeria, Tunisia, Turquía, Túnez, Senegal, Sudán, Egipto, Kuwait. Se ha reportado también en Cuba, República Dominicana, Jamaica y recientemente en Portugal, España y Florida (USA) (Brunt *et al.* 1996, Polston y Anderson 1997, Anderson 1998). No se ha reportado en Honduras ni otros países en Centroamérica.
- **Rango de hospederos:** Incluye las familias Solanaceae, Compositae, Leguminosae-Papilionoidae, Malvaceae y Asclepiadaceae. Entre los hospederos naturales se encuentran: *Datura stramonium*, *Nicotiana glutinosa*, *N. benthamiana* y *Phaseolus vulgaris* (frijol), *Lycopersicum esculentum* (tomate), *Malva parviflora* y *Cynanchum acutum* (Brunt *et al.* 1996).
- **Transmisión:** Se transmite únicamente por mosca blanca, específicamente un biotipo de *Bemisia tabaci* conocido como *Bemisia argentifolii*. La transmisión es de tipo persistente, lo que significa que el insecto una vez que adquiere el virus al alimentarse de una planta enferma, es capaz de transmitir el virus durante toda su vida (Polston *et al.* 1994). Recientes estudios demuestran que puede ser transmitido a los huevecillos de mosca blanca por lo menos dos generaciones (Guerra 2000). No se transmite por contacto entre plantas, ni en forma mecánica, ni por semilla (Brunt *et al.* 1996).

Manejo:

- **Manejo químico del vector:** Evitar la llegada de mosca blanca a la plantación con aplicaciones de insecticidas como Imidacloprid en cultivos aledaños o malezas hospederas (Anderson 1998). Siembra de cultivos atrayentes en los bordes y aplicaciones de insecticidas en éstos para controlar mosca blanca (Sponagel y Fúnez 1994).
- **Prácticas culturales:** Incorporación de rastrojos de cultivos anteriores y eliminación de malezas hospederas antes de establecer la plantación. Uso de plástico reflector y trampas pegajosas; siembra en invernaderos en lo posible (Anderson 1998). Evitar la siembra directa y en lo posible transplantar plántulas sanas y vigorosas. El inicio de la siembra debe ser en la última posición contra el viento. Siembra en alta densidad y rotación con cultivos no hospederos de mosca blanca. Establecer un período libre de siembra y coordinar la siembra con las épocas de baja presencia de mosca blanca (Sponagel y Fúnez 1994).



Figura 14. Síntomas de TYLCV
Fuente: Universidad de la Florida

“CHINO DEL TOMATE” (CdTV)

Grupo: Geminivirus



- **Tipo de ácido nucleico:** ADN de cadena simple

Figura 15. Partículas de un geminivirus.
Fuente: Ramírez y Bustamante (1996).

- **Síntomas:** En Chile causa un ligero mosaico y distorsión ligera de la hoja, pero a veces no expresa síntomas (Black *et al.* 1991), también causa arrugamiento y caída de pecíolos y frutos. En tomate causa moteado, amarillamiento y enrollamiento de la hoja (Brunt *et al.* 1996). El virus chino del tomate (CdTV) junto con el virus leve del tigre del Chile (PMTV) y otros virus que no han sido caracterizados forman el complejo que causa la enfermedad conocida como "tiger disease" identificada en México (Black *et al.* 1991) y el sur de Texas (Brunt *et al.* 1996).
- **Distribución geográfica:** Se ha reportado en México y Estados Unidos (Brunt *et al.* 1996).
- **Rango de hospederos:** Incluyen *Lycopersicon esculentum* (tomate), *Capsicum* spp., *Datura stramonium*, *Malva parviflora*, *Nicotiana* sp., *Phaseolus vulgaris* (frijol) (Brunt *et al.* 1996).
- **Transmisión:** Por *Bemisia tabaci* (Aleyrodidae). La transmisión es de tipo persistente, lo que significa que el insecto una vez que adquiere el virus al alimentarse de una planta enferma, es capaz de transmitir el virus durante toda su vida (Polston *et al.* 1994). El virus no se multiplica en el vector ni se transmite a la progenie del vector. **No se transmite en forma mecánica, por contacto entre plantas, ni por semilla** (Brunt *et al.* 1996).

Manejo:

- **Manejo químico del vector:** Evitar la llegada de mosca blanca a la plantación, controlando en las malezas hospederas y en los alrededores del cultivo. Se obtienen controles satisfactorios con productos como Imidacloprid, fepropatrín, metomilo y endosulfán.
- **Prácticas culturales:** Incorporación de rastrojos de cultivos anteriores, eliminación de malezas hospederas antes de establecer la plantación; uso de plástico reflector,

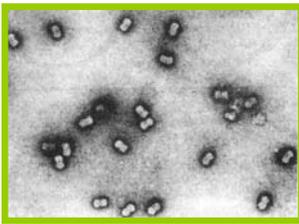
trampas pegajosas, siembra en invernaderos en lo posible (Anderson 1998), evitar la siembra directa, en lo posible transplantar plántulas sanas y vigorosas, inicio de la siembra en la última posición contra el viento, siembra en alta densidad, rotación con cultivos no hospederos de mosca blanca, establecer un período libre de siembra y coordinar la siembra con las épocas de baja presencia de mosca blanca (Sponagel y Fúnez 1994).



Figura 16. Síntomas de CdTV
Fuente: Universidad de Arizona

VIRUS DEL TOMATE DE LA HAVANA

Grupo: Geminivirus



- **Nombre en inglés:** “Tomato mosaic Havana virus” (ToMHV).
- **Tipo de ácido nucleico:** ADN de cadena simple.

Figura 17. Partículas de un geminivirus.

Fuente: Ramírez y Bustamante 1996.

- **Síntomas:** Enrollamiento y amarillamiento de las hojas en tomate
- **Distribución geográfica:** Cuba. Recientemente reportado en Honduras (Maxwell 2001).
- **Rango de hospederos:** *Lycopersicum esculentum* (tomate).
- **Transmisión:** Transmitido por un insecto vector, mosca blanca (*Bemisia tabaci*) (Martínez *et al.* 1999). La transmisión es de tipo persistente, lo que significa que el insecto una vez que adquiere el virus al alimentarse de una planta enferma, es capaz de transmitir el virus durante toda su vida (Polston *et al.* 1994). No es transmitido mecánicamente, por contacto entre plantas ni por semilla.
- **Manejo:**
 - **Manejo químico del vector:** Evitar la llegada de mosca blanca a la plantación con aplicaciones de insecticidas como Imidacloprid en cultivos aledaños o malezas hospederas (Anderson 1998). Siembra de cultivos atrayentes en los bordes y uso de insecticidas para la mosca blanca (Sponagel y Fúnez 1994).
 - **Prácticas culturales:** Incorporación de rastrojos de cultivos anteriores. Eliminación de plantas hospederas antes de establecer la plantación. Uso de plástico reflector y trampas pegajosas. Siembra en invernaderos en lo posible (Anderson 1998). Evitar la siembra directa, en lo posible transplantar plántulas sanas y vigorosas; siembra en la última posición contra el viento, siembra en alta densidad, rotación con cultivos no hospederos de mosca blanca. Establecer un

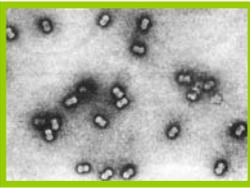
período libre de siembra y coordinar la siembra con las épocas de baja presencia de mosca blanca (Sponagel y Fúnez 1994).



Figura 18. Síntomas de ToMHV
Fuente: Universidad de Arizona

VIRUS DEL CHILE DE TEXAS

Grupo: Geminivirus



- Nombre en inglés: “Pepper Texas virus”
- Tipo de ácido nucleico: ADN de cadena simple.

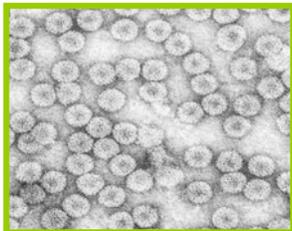
Figura 19. Partículas de un geminivirus.

Fuente: Ramírez y Bustamante 1996.

- Síntomas: enrollamiento, deformación de la hoja, aclaración de las venas y disminución en el crecimiento (Brunt *et al.* 1996).
- Distribución geográfica: Se ha reportado en México y Estados Unidos (Brunt *et al.* 1996).
- Rango de hospederos: Chile, *Datura stramonium*, tomate, *Nicotiana benthamiana*, *Nicotiana clevelandii*, *Nicotiana rustica* y *Nicotiana tabacum* (Brunt *et al.* 1996).
- Transmisión: Transmitido por un vector, mosca blanca (*Bemisia tabaci*). La transmisión es de tipo persistente, lo que significa que el insecto una vez que adquiere el virus al alimentarse de una planta enferma, es capaz de transmitir el virus durante toda su vida (Polston *et al.* 1994). No se transmite mecánicamente, no se transmite por semilla, por contacto entre plantas o por polen (Brunt *et al.* 1996).
- Manejo:
 - Manejo químico del vector: Evitar la llegada de mosca blanca a la plantación con aplicaciones de insecticidas como Imidacloprid en cultivos aledaños o malezas hospederas (Anderson 1998). Siembra de cultivos atrayentes en los bordes y uso de insecticidas para la mosca blanca (Sponagel y Fúnez 1994).
 - Prácticas culturales: Incorporación de rastrojos de cultivos anteriores y eliminación de plantas hospederas antes de establecer la plantación, uso de plástico reflector, trampas pegajosas, siembra en invernaderos en lo posible (Anderson 1998), evitar la siembra directa, en lo posible transplantar plántulas sanas y vigorosas, inicio de la siembra en la última posición contra el viento, siembra en alta densidad, rotación con cultivos no hospederos de mosca blanca, establecer un período libre de siembra y coordinar la siembra con las épocas de baja presencia de mosca blanca (Sponagel y Fúnez 1994).

VIRUS DEL MOSAICO DEL PEPINO

Grupo: Cucumovirus



- **Nombre en inglés:** “Cucumber mosaic virus” (CMV)
- **Tipo de ácido nucleico:** ARN de cadena simple.

Figura 20. Partículas de un cucumovirus
Fuente: Green y Kim, 1991.

- **Síntomas:** La sintomatología es extremadamente variable. Los síntomas se manifiestan de tres a cuatro semanas después de la infección. En Chile uno de los síntomas más comunes es una disminución en el crecimiento, un leve aclaramiento de la hoja con una apariencia cueruda, sin lesiones foliares. También puede observarse un estrechamiento de las hojas, mosaico, amarillamiento y anillos cloróticos o necróticos. En el fruto pueden observarse anillos necróticos o cloróticos, superficie áspera y distorsión (Black *et al.* 1991). En tomate se observa mosaico, reducción en el crecimiento y en la lámina foliar (Brunt *et al.* 1996). Las hojas pueden mostrar un moteado similar al causado por el virus del mosaico del tabaco (Jones *et al.* 1997). En cucurbitáceas como melón, pepino y "squash" se observa un moteado, deformación, arrugamiento de hojas y los bordes se enrollan hacia abajo (Agrios 1995). Hay una disminución drástica en el crecimiento, los entrenudos y pecíolos del tallo se acortan y las hojas se desarrollan la mitad del tamaño normal; forman pocos estolones, flores y frutos. En el fruto se observan áreas blancas o verde pálido mezclado con áreas en relieve de color verde oscuro, hay deformación y ablandamiento. La intensidad de los síntomas depende de la especie y el cultivar infectado, la edad de las plantas y las condiciones ambientales. Los síntomas más severos se observan en calabaza (“squash”) y melón y son menos severos en pepino y sandía (Zitter *et al.* 1998).
- **Distribución geográfica:** Se ha reportado en todo el mundo, sin embargo es más común en regiones templadas del mundo (Jones *et al.* 1997).
- **Rango de hospederos:** Afecta alrededor de 2000 especies incluyendo monocotiledóneas y dicotiledóneas, cultivos y malezas. El rango de hospederos incluye tomate, Chile y cucurbitáceas (Zitter *et al.* 1998).
- **Transmisión:** Alrededor de 60 especies de áfidos, incluyendo *Myzus persicae*, *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora*. La transmisión es de tipo no persistente que significa, que el insecto es capaz de adquirir el virus de una planta enferma en poco tiempo (minutos), transmite el virus a plantas sanas pero pierde rápidamente la capacidad de transmitirlo (minutos). La relación del virus y el vector es temporal

(Agrios 1995). **Es transmitido fácilmente en forma mecánica**, no se ha reportado transmisión por semilla (Brunt *et al.* 1996, Zitter *et al.* 1998).

- **Manejo:**

- **Manejo químico del vector:** Uso de insecticidas y aceites para controlar áfidos pero aplicados en malezas hospederas (CATIE 1993, Jones *et al.* 1997) para evitar la llegada de áfidos al cultivo porque una vez establecido el cultivo el áfido logra transmitir el virus antes de morir.
- **Prácticas culturales:** Incorporación de residuos de cultivos anteriores. En lo posible evitar cultivos escalonados. Si no es posible, sembrar los cultivos escalonados de tal forma que el más viejo quede más alejado y en contra de la dirección del viento. Uso de barreras vivas alrededor de la plantación que impida la llegada de áfidos a la plantación y donde éstos limpian su estilete. Control de malezas hospederas alrededor de la plantación antes de establecer el cultivo (Zitter *et al.* 1998). Desinfección de herramientas y manos del personal que realice labores en el cultivo como amarre y tutoreo, para evitar transmisión entre plantas.



Figura 21. Síntomas de CMV
Fuente: Universidad de Texas

VIRUS DE LA MARCHITEZ MANCHADA DEL TOMATE

Grupo: Tospovirus



- **Nombre en inglés:** “Tomato spotted wilt virus” (TSWV)
- **Tipo de ácido nucleico:** ARN de cadena simple

Figura 22. Partículas de un tospovirus.

Fuente: Green y Kim 1991.

- **Síntomas:** Son muy variables, generalmente las hojas jóvenes toman un color bronceado y luego aparecen muchas manchas pequeñas grises, moteado, deformación y amarillamiento de venas. Los ápices en crecimiento se caen, observándose marchitez en la planta, en el fruto causa manchas anulares cloróticas (Jones *et al.* 1997).
- **Distribución geográfica:** Se ha reportado en todo el mundo, es más común en regiones templadas y subtropicales. Ha causado grandes pérdidas en tomate en Australia, Argentina, Hawái, Arkansas, Florida, Alabama, Georgia y Tennessee (Jones *et al.* 1997).
- **Rango de hospederos:** Es muy amplio, se ha reportado en 166 especies en 34 familias, incluyendo 7 familias monocotiledóneas. Incluye tomate, chile, *Bidens pilosa*, *Datura stramonium*, *Malva parviflora*, *Nicandra physalodes*, frijol, entre otros (Brunt *et al.* 1996).
- **Transmisión:** Se transmite por *Thrips tabaci*, *T. setosus*, *T. parvi*, *Frankliniella schultzei*, *F. occidentalis*, *F. fusca* y *Scirtothrips dorsalis*. La transmisión es de tipo persistente, lo que significa que el insecto una vez que adquiere el virus al alimentarse de una planta enferma, es capaz de transmitir el virus durante toda su vida (Polston *et al.* 1994). El virus es adquirido por la larva, no por adultos, pero solo los adultos lo transmiten cuando se alimentan de plantas infectadas en el estado larval; no transmiten el virus a la progenie. Se transmite por inoculación mecánica, por injerto, **no se transmite por contacto entre plantas, por semilla ni por polen** (Brunt *et al.* 1996).
- **Manejo:**
 - **Manejo químico del vector:** Aplicaciones de insecticidas para controlar thrips no son efectivas porque el vector logra transmitir el virus antes de morir (Jones *et al.* 1997).

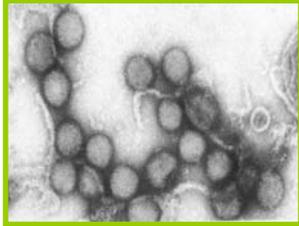
- **Prácticas culturales:** No se han encontrado estrategias efectivas de control (Davis *et al.* 1996).



Figura 23. Síntomas de TSWV
Fuente: Universidad de Carolina del Norte

IMPATIENS NECROTIC SPOT VIRUS

Grupo: Tospovirus



- **Acrónimo:** INSP
- **Tipo de ácido nucleico:** ARN de cadena simple

Figura 24. Partículas de un tospovirus.

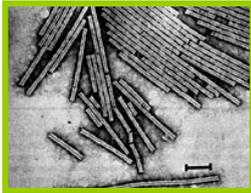
Fuente: Green y Kim 1991.

- **Síntomas:** Decoloración en la base las hojas, manchas de color café en las hojas (EPPO s.f.), el tallo empieza a tomar una coloración café y las flores se caen (Windham *et al.* 1998).
- **Distribución geográfica:** Bélgica, Francia, Alemania, Israel, Italia, Países Bajos, Polonia, España, Reino Unido, Canadá, USA, Hawaii, México, Costa Rica (EPPO s.f.).
- **Rango de hospederos:** Tiene un amplio rango de hospederos. Mas de 300 especies de plantas de unas 50 familias son susceptibles a INSP (Windham *et al.* 1998). Encontrado en ornamentales como *Aconitum*, *Alstroemeria*, *Anemone*, *Antirrhinum*, *Begonia*, *Bouvardia*, *Callistephus*, *Columnea*, *Cyclamen persicum*, *Dahlia*, *Dendranthema x grandiflorum*, *Eustoma grandiflorum*, *Exacum affine*, *Fatsia japonica*, *Gerbera*, *Gladiolus*, *Limonium*, *Lobelia*, *Pittosporum*, *Primula*, *Ranunculus*, *Senecio cruentus*, *Sinningia speciosa*, *Zantedeschia aethiopica*; en cultivos hortícolas como *Capsicum annum*, *Cichorium endivia*, *Cucumis sativus*, *Lactuca sativa*, *Ocimum basilicum* y *Valerianella oleria* (EPPO s.f.).
- **Transmisión:** Se transmite principalmente por thrips de forma persistente como *Frankliniella occidentales* (EPPO s.f.). Las larvas adquieren el virus al alimentarse de una planta infectada en un período de 30 minutos. Después de un período de latencia el cual dura de tres a 18 días, el insecto vector puede infectar plantas sanas al alimentarse de cinco a diez minutos. Los insectos son capaces de transmitir el virus por el resto de su vida (Windham *et al.* 1998, Wick 2003).
- **Manejo:**
 - **Manejo químico del vector:** Aplicaciones de insecticidas para controlar thrips en un intervalo de cinco días. Rotar los insecticidas para evitar la resistencia del insecto vector (Windham *et al.* 1998).

- **Prácticas culturales:** Utilizar material vegetal libre de virus. Monitorear las poblaciones de *F. Occidentales* con trampas amarillas. Utilizar mallas que bloqueen la entrada de thrips a los invernaderos o macrotúneles (EPPO s.f.). Eliminar plantas infectadas para evitar la infección del resto de la plantación, al igual que las malezas que se encuentran dentro y fuera del cultivo, ya que las malezas sirven como reservorio del virus y hospederas de los thrips (Windham *et al.* 1998).

VIRUS DEL MOSAICO DEL TABACO

Grupo: Tobamovirus



- **Nombre en inglés:** “Tobacco mosaic virus” (TMV).
- **Tipo de ácido nucleico:** ARN de cadena simple

Figura 25. Partículas de tobamovirus.

- **Síntomas:** En tomate causa desde un mosaico ligero hasta un mosaico amarillo brillante, deformación de hojas, necrosis en los tallos, hojas y frutos y un ligero enanismo (CATIE 1990). En Chile, causa un moteado verde oscuro o claro que es más notorio en las hojas jóvenes de la planta; también causa encrespamiento y malformación de hojas (CATIE 1993). En el fruto causa maduración desuniforme y reducción en el tamaño y número de frutos. Pueden observarse anillos de color amarillo si la maduración se da en altas temperaturas (Zitter *et al.* 1998).
- **Distribución geográfica:** Reportado en todo el mundo.
- **Rango de hospederos:** Incluyen tomate, Chile, remolacha (*Beta vulgaris*), melón (*Cucumis melo*), sandía (*Cucumis sativus*), lechuga, papa, *Datura stramonium* y varias especies de nicotiana (Brunt *et al.* 1996). El rango de hospederos es amplio e incluye la mayoría de las especies dentro de las familias Aizoacea, Amaranthaceae, Chenopodiaceae y Scrophulariaceae (Zitter *et al.* 1998).
- **Transmisión:** Este virus no es transmitido por vectores. Se transmite en forma mecánica durante las labores culturales, por contacto entre plantas, por semilla, no se transmite por el polen (Brunt *et al.* 1996). Este virus tiene menor incidencia en Chile de tipo industrial ya que no se podan ni se tutorean, por lo que el manipuleo de plantas es mucho menor. Este virus es resistente a la desecación y tiene un elevado punto de inactivación térmica, por lo que permanece activo durante largos períodos en hojas secas de tabaco y en residuos de cosecha. Debido a eso, el TMV puede conservarse en el tabaco, por lo tanto, los trabajadores que fuman y que llevan el virus en las manos, son los principales diseminadores (CATIE 1993).
- **Manejo:**
 - **Prácticas culturales:**
Una vez que el virus se ha establecido en el cultivo es difícil evitar la diseminación, por tanto los medios de control sanitario deben dirigirse a prevenir la infección o retardarla. El ingreso a la plantación para personas fumadoras debe restringirse, no

se debe utilizar tabacos mientras se trabaja en almácigos, transplantes o labores que involucren el manipuleo de plantas (CATIE 1993). Al realizar labores culturales deben desinfectarse las manos y herramientas antes y después de trabajar. Se puede utilizar una solución de agua y formol al 1%, una solución de fosfato trisódico al 10%, o en último caso agua y jabón (Blancard 1992). Las plantas enfermas que presentan síntomas deben manipularse por separado, lavándose las manos con agua y jabón común para inactivar el virus, antes de tocar plantas que no presentan síntomas (CATIE 1993).

Eliminar las malezas en los alrededores de almácigos. Deben eliminarse las plantas enfermas y los residuos de cosecha del suelo inmediatamente después de la cosecha porque existe la posibilidad de transmitir el virus por contacto radicular (CATIE 1993).

Debe sembrarse semilla certificada libre de TMV. En caso de que la semilla no sea certificada puede tratarse utilizando una solución al 10% de fosfato trisódico (Na_3PO_4) durante 15 minutos. También puede tratarse la semilla con calor, dos a cuatro días a 70°C , este tratamiento elimina el virus dentro y fuera de la semilla y aparentemente no afecta la germinación (Zitter *et al.* 1998).

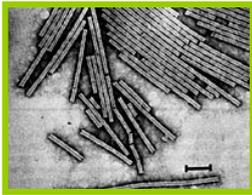


Figura 26. Síntomas de TMV

Fuente: Universidad Católica de Chile

VIRUS DEL MOSAICO DEL TOMATE

Grupo: **Tobamovirus**



- **Nombre en inglés:** “Tomato mosaic virus” (ToMV).
- **Tipo de ácido nucleico:** ARN de cadena simple

Figura 27. Partículas de un tobamovirus.

- **Síntomas:** Mosaico con distorsión en las hojas jóvenes. La fructificación puede ser reducida en forma severa en plantas afectadas. Puede presentarse coloración café en la piel del tomate. Manchas necróticas en tallos, pecíolos, hojas y el fruto (Cerkauskas 2004).
- **Distribución geográfica:** Reportado en todo el mundo (Jarvis y McKeen 2003).
- **Rango de hospederos:** el principal es el tomate, aunque afecta a más de 9 familias. Además *Solanum giganteum*, *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana rustica*, *Capsicum annuum*, *Capsicum frutescens*, *Chenopodium amaranticolor*, *Chenopodium murale*, *Chenopodium quinoa*, *Datura metel*, *Lycopersicon pimpinellifolium*, *Nicotiana benthamiana*, *Nicotiana clevelandii*, *Nicotiana glutinosa*, *Nicotiana megalosiphon*, *Solanum melongena*, *Solanum nigrum*, entre otros (Jarvis y McKeen 2003).
- **Transmisión:** Este virus no es transmitido por vectores. Se transmite en forma mecánica durante las labores culturales, por contacto entre plantas y por semilla (Cerkauskas 2004).
- **Manejo:**
 - **Manejo químico:** Aplicar un fertilizante comercial rico en nitrógeno y fósforo cuando las plantas muestren síntomas de clorosis (Jarvis y McKeen 2003).
 - **Prácticas culturales:**
Una vez que el virus se ha establecido en el cultivo es difícil evitar la diseminación, por tanto los medios de control sanitario deben dirigirse a prevenir la infección o retardarla.

Al realizar labores culturales deben desinfectarse las manos y herramientas antes y después de trabajar. Se puede utilizar una solución de agua y formol al 1%, una solución de fosfato trisódico al 10%, o en último caso agua y jabón (Blancard

1992). También se puede sumergir las manos en leche cada 5 minutos cuando se está trabajando en el cultivo (Cerkauskas 2004).

Debe sembrarse semilla certificada libre de virus. Es necesario tratamientos a la semilla por calor (70°C por cuatro días u 80-85°C por 24 horas) para eliminar el virus dentro y fuera de la semilla; también se pueden sumergir por 15 minutos en 100 g/l en una solución de fosfato trisódico (Na_3PO_4), enjuagarlas y esparcir las semillas dejándolas secar (Cerkauskas 2004).

Evitar sembrar tomate con cultivos susceptibles al virus como tabaco, chile, y cucurbitáceas. Eliminar las malezas en los alrededores de almácigos. Deben eliminarse las plantas enfermas y los residuos de cosecha del suelo inmediatamente después de la cosecha porque existe la posibilidad de transmitir el virus por contacto radicular (CATIE 1993).

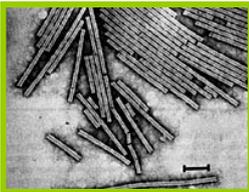


Figura 28. Síntomas de ToMV

Fuente: AVRDC

VIRUS DEL MOTEADO LEVE DEL CHILE

Grupo: **Tobamovirus**



- **Nombre en inglés:** “Pepper Mild Mottle Virus” (PMMV).
- **Tipo de ácido nucleico:** ARN de cadena simple

Figura 29. Partículas de tobamovirus.

- **Síntomas:** En las hojas del chile se presenta mosaico amarillo/verde, mientras que los frutos son pequeños, malformados, con puntos necróticos. Las pérdidas en el campo son considerables cuando las plantas jóvenes son infectadas (Cerkauskas 2004).
- **Distribución geográfica:** Reportado en todo el mundo (Jarvis y McKeen 2003).
- **Rango de hospederos:** el principal es el chile, aunque afecta a más de 9 familias. Además son susceptibles *Datura metel*, *Datura stramonium*, *Chenopodium amaranticolor*, *C. Quinoa*, *Capsicum chacoense*, *C. Praetermissum*, *Nicotiana glutinosa*, *N. sylvestris*, *N. Tabacum*, entre otras (Brunt *et al.* 1996).
- **Transmisión:** Este virus no es transmitido por vectores. Se transmite en forma mecánica durante las labores culturales, por contacto entre plantas y por semilla (Cerkauskas 2004).
- **Manejo:**
 - **Prácticas culturales:**
Una vez que el virus se ha establecido en el cultivo es difícil evitar la diseminación, por tanto los medios de control sanitario deben dirigirse a prevenir la infección o retardarla.

Al realizar labores culturales deben desinfectarse las manos y herramientas antes y después de trabajar. Se puede utilizar una solución de agua y formol al 1%, una solución de fosfato trisódico al 10%, o en último caso agua y jabón (Blancard 1992). También se puede sumergir las manos en leche cada 5 minutos cuando se está trabajando en el cultivo (Cerkauskas 2004).

Debe sembrarse semilla certificada libre de virus. Es necesario tratamientos a la semilla por calor (70°C por cuatro días u 80-85°C por 24 horas) para eliminar el virus dentro y fuera de la semilla; también se pueden sumergir por 15 minutos en

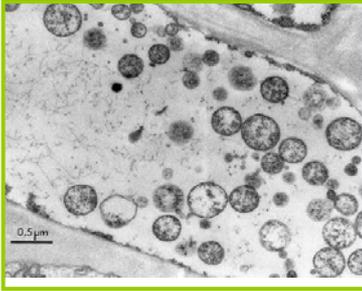
100 g/l en una solución de fosfato trisódico (Na_3PO_4), enjuagarlas y esparcir las semillas dejándolas secar (Cerkauskas 2004).

Evitar sembrar chile con cultivos susceptibles al virus como tabaco, tomate, y cucurbitáceas. Eliminar las malezas en los alrededores de almácigos. Deben eliminarse las plantas enfermas y los residuos de cosecha del suelo inmediatamente después de la cosecha porque existe la posibilidad de transmitir el virus por contacto radicular (CATIE 1993).



Figura 30. Síntomas de PMMV
Fuente: Sociedad brasileña de fitopatología

PUNTA MORADA DE LA PAPA



- **Nombre en inglés:** “Potato Purple Top” (PPT).
- **Agente causal:** Fitoplasmas
- **Tipo de ácido nucleico:** ADN

Figura 31. Morfología de fitoplasmas
Fuente: Universidad de Alberta, Canada

- **Síntomas:** Clorosis de los folíolos, usualmente a lo largo de los márgenes en las plantas infectadas; enrollamiento de la parte basal de los folíolos de las hojas jóvenes del brote. Los tubérculos de plantas afectadas usualmente son pequeños y producen brotes ahilados. Pigmentación púrpura se produce en la base de los folíolos y los tallos se marchitan debido a necrosis del floema interno de los tallos. Plantas jóvenes afectadas producen tubérculos aéreos y engrosamiento de los nudos del tallo. Se pueden producir tubérculos aéreos (Salazar s.f.)
- **Distribución geográfica:** México, Centro América y Perú.
- **Rango de hospederos:** papa (*Solanum tuberosum*).
- **Transmisión:** El fitoplasma que ocasiona punta morada en papa se transmite a través de psílidos de la Familia Cicadellidae como *Paratrioza cockerelli*. No más de 12 especies han sido implicadas en la transmisión de fitoplasmas en papa, aunque más de 130 han sido reconocidas como vectores de fitoplasmas (Salazar s.f.).
- **Manejo:** Uso de semilla libre de esta enfermedad. La producción de semilla debe realizarse en zonas que se sabe que están libres del vector y debe eliminarse toda planta que muestre algunos de los síntomas descritos. En tubérculos en brotamiento, deben eliminarse aquellos que muestren principalmente proliferación de brotes y brotes ahilados. Control de vectores que transmiten los fitoplasmas (Salazar s.f.).

Para manejar los fitoplasmas se hacen aplicaciones de antibióticos del grupo de la tetraciclina y oxitetraciclina (Terramicina Agrícola) (Pfizer 2005).



Figura 32. Síntomas de punta morada
Fuente: Universidad de Nebraska

Anexo 9: Presentación de la defensa de la tesis

Determinar la presencia de geminivirus y fitoplasmas en tomate en Guatemala, El Salvador, Honduras y Nicaragua

Tania Toruño Calero

Introducción



- La incidencia y severidad de infecciones virales en los cultivos hortícolas se ha incrementado en la última década
- Mosca blanca (*Bemisia tabaci*) principal vector de geminivirus

Introducción

- Muchas zonas hortícolas han desaparecido por el abuso de la aplicación de plaguicidas



¿Uso apropiado de agroquímicos?






PUNTA MORADA EN PAPA

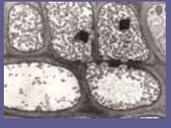


STOLBUR EN TOMATE

SÍNTOMAS EN TOMATE ??

Fitoplasmas

- Familia Mollicutes
- Los fitoplasmas se encuentran en los tubos cribosos y ocasionalmente en las células parenquimáticas del floema de las plantas infectadas. Son pleomórficos, carecen de pared celular y están rodeados por una membrana unitaria



Fitoplasma

- El principal vector es de la familia Cicadellidae (*Paratrioza cockerelli*)



Control de Fitoplasma

- El antibiótico más utilizado para el control de fitoplasmas es la terramicina agrícola, a base de oxitetraciclina, pero su control no es total
- Según estudios realizados en México, la aplicación de oxitetraciclina reduce el daño de punta morada, aumentado los rendimientos de un 20 a 65% y mejora la calidad de los tubérculos

Antibióticos

- Los antibióticos actúan por distintos mecanismos en diferentes regiones de la célula atacada:
 - pared bacteriana: interfieren en la síntesis de peptidoglicanos
 - síntesis de proteínas: las tetraciclinas se unen al ribosoma en la porción 30 S, induciendo errores en la síntesis de proteínas
 - síntesis de ácidos nucleicos: antimetabolitos impidiendo la síntesis de purinas; disrupción de las cadenas de ADN, impidiendo su reparación

Antibióticos

Antibióticos utilizados para control de enfermedades bacteriales como:

- Chancro bacteriano (*Clavibacter michiganensis*)
- Sarna bacteriana (*Xanthomonas campestris*)
- Peca bacteriana (*Pseudomonas syringae*)
- Podredumbres blandas (*Erwinia carotovora*)

Objetivo general

- Establecer si los daños observados en plantaciones de tomate en zonas productoras de Guatemala, El Salvador, Honduras y Nicaragua son causados por geminivirus o fitoplasmas

Objetivos específicos

- Determinar la presencia de geminivirus y fitoplasmas en las zonas productoras de tomate recolectadas en los cuatro países utilizando la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)
- Establecer si el uso de antibióticos es justificado para manejar los problemas de producción de tomate en las zonas de estudio

Materiales y Métodos

- Recolección de 112 muestras en las zonas productoras de tomate en Guatemala, El Salvador, Honduras y Nicaragua
- Los sitios muestreados fueron en zonas donde Syngenta, Bayer, Fintrac CDA y PROMIPAC brindan asistencia técnica a los pequeños agricultores

Materiales y Métodos



Materiales y Métodos





Materiales y Métodos

- Extracción de ADN total
- Diagnóstico de geminivirus (PCR):
 - Primers 514 y 1048 para geminivirus universal
 - Amplificar el gen de la cápside proteica de geminivirus del subgrupo III (Begomoviridae) de peso molecular de 576 pares de base

Materiales y Métodos

- Diagnóstico de fitoplasma (PCR):
 - Primers universales P1 y P7
 - Amplifican el gen 16SrRNA de peso molecular de 1250 pb (pares de bases)

Resultados

- No se detectaron infecciones por fitoplasmas, pero si por geminivirus

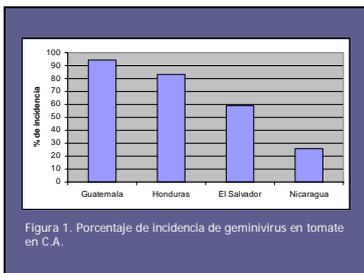


Figura 1. Porcentaje de incidencia de geminivirus en tomate en C.A.

Conclusiones

- Con los métodos utilizados en este estudio, no se detectó la presencia de fitoplasmas en tomate
- Las infecciones virales siguen siendo el problema principal en las plantaciones de tomate y cultivos hortícolas en Centro América
- El manejo actual que se le da al cultivo de tomate no es el más apropiado

Recomendaciones

- Analizar otros virus que atacan al tomate para determinar cuales son los virus que más causan daños en Centro América
- GEMINIVIRUS
 - Tomato Havana Mosaic Virus
 - Pepper Golden Mosaic Virus
 - Tomato Severe Leaf Curl Virus
 - Huasteco Mosaic Virus
- POTIVIRUS
 - Pepper Mottle Virus
 - Tobacco Etch Virus
 - Potato Virus Y

Recomendaciones

- Sembrar bajo agricultura de protección (macrotúneles o plasticultura).
- Informar a programas de extensión agrícola, a programas de MIP y a las casas comerciales sobre los resultados de este estudio.

Anexo 10. Árbol filogenético de muestras tomate y chile de Honduras

Phylogenetic tree of Untitled, using Clustal method with Weighted residue weight table.
Thursday, April 4, 2002 6:57 PM

Page 1

PREPARED BY JUDY BROWN
FROM HONDURAS SAMPLES.

Hon Abstract

