

ZAMORANO
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

**IDENTIFICACION DE LAS PRINCIPALES
INFECCIONES VIRALES EN LOS CULTIVOS
DE CHILE, TOMATE Y SANDIA EN
HONDURAS**

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

Presentado por

Edith Esther Bermeo Mármol

Zamorano, Honduras
Octubre, 2001

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

Edith Bermeo Mármol

Zamorano, Honduras
Octubre, 2001

**IDENTIFICACION DE LAS PRINCIPALES INFECCIONES VIRALES EN LOS
CULTIVOS DE CHILE, TOMATE Y SANDIA EN HONDURAS**

Presentado por

Edith Esther Bermeo Mármol

Aprobada:

María Mercedes Doyle, Ph. D.
Asesora Principal

Alfredo Rueda, Ph. D.
Coordinador de área temática

Alfredo Rueda, Ph. D.
Asesor

Jorge Ivan Restrepo, M. B. A.
Jefe de la Carrera de Ciencia
y Producción Agropecuaria

Elsa Barrientos, M. Sc.
Asesora

Antonio Flores, Ph. D.
Decano

Pablo Paz, Ph. D.
Coordinador PIA

Keith Andrews, Ph. D.
Director General

DEDICATORIA

A mi madre.

A mis hermanas Ruth y Tatiana.

A la memoria de mi padre.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, por su amor incondicional, apoyo, confianza y por creer siempre en mí.

Al Dr. Alfredo Rueda por sus valiosas ideas y sugerencias en la realización de este trabajo.

A la Ing. Lorena Lastres de Rueda, por su apoyo en el trabajo de campo y por ser ejemplo de una excelente profesional, sin su ayuda este trabajo no hubiera sido posible.

A todo el personal del D.P.V. (Antonio, Dr. Pitty, Dr. Cave, Maximino, Ana, Rosa, Julio, Werner, Jorge, Don Rafael, Silvia, Carolina, Doña María...) gracias por todo.

A Lourdes por estar siempre dispuesta a ayudar.

A Estela por brindarme su ayuda, conocimientos, tiempo y amistad.

A la Dra. María Mercedes Doyle por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de ingeniería, por su paciencia y ayuda.

A la Lic. Elsa Barrientos por su ayuda en el trabajo de laboratorio.

A mis compañeros de laboratorio Andrés y Carlos por su ayuda.

A Melissa por su buena disposición a ayudar y paciencia.

A mis amigos (as): Ana Cristina, Sonia, Cecilia, Guillermo, Claudia, Hugo, Gerardo y Carlos. Muchas gracias por su apoyo constante, preocupación y amistad.

A todas las personas que de una u otra forma contribuyeron con este trabajo y que me guardan cariño. Muchas gracias.

AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES

Agradezco al Instituto Ecuatoriano de Crédito Educativo y Becas por contribuir financieramente para continuar mis estudios en el programa de Ingeniero Agrónomo.

Al Fondo Dotal Suizo, por el apoyo financiero durante el programa de agrónomo.

Agradezco al Proyecto IPM-CRSP por brindarme el apoyo económico parcial en el programa de Ingeniero Agrónomo.

Agradezco al Proyecto Salud de Suelos de la Universidad de Cornell y Zamorano y al Centro de Desarrollo de Agronegocios por la colaboración brindada para este proyecto de investigación.

RESUMEN

Bermeo Mármol, Edith. 2001. Identificación de las principales infecciones virales en los cultivos de chile, tomate y sandía en Honduras. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 78 p.

Las infecciones virales son uno de los factores más limitantes en la producción de chile, tomate y sandía en Honduras. Hay poco conocimiento sobre la etiología de las enfermedades virales y sus relaciones con vectores y hospederos. Existe la percepción errónea de que la virosis es un solo problema asociado a un vector, la mosca blanca, por lo que el manejo basado en el uso de insecticidas para controlarla ha sido ineficiente. Entre marzo y junio de 2001 se recolectaron 204 muestras con síntomas virales (84 de chile, 31 de tomate, 44 de sandía, 8 de otros cultivos: berenjena, melón, okra china, pepino y pepino peludo y 37 malezas asociadas a estos cultivos, en Comayagua, Copán, Choluteca, Güinope, Olancho, Valle y Zamorano. En la mayoría de las plantaciones se midió la incidencia y severidad de las infecciones virales. Las muestras se analizaron para geminivirus universal mediante la técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). También se diagnosticaron para potyvirus y virus del mosaico del pepino (CMV), y se analizaron 92 muestras de chile y tomate para el virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV), utilizando la técnica de ELISA (Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a una Enzima). La incidencia y severidad más alta se observó en chile, en Comayagua, Zamorano y Valle; en tomate, en Zamorano y Güinope; y en sandía, en Valle. En chile hubo 54% de infección por geminivirus, 8% por CMV y 44% de infección mixta entre geminivirus y CMV. En tomate hubo 23% de infección por geminivirus. No se encontró el TSWV. En sandía hubo 36% de geminivirus, 41% de potyvirus y 23% de infección mixta entre geminivirus y potyvirus. En otros cultivos solamente se encontró 50% de geminivirus en melón. Las malezas *Boerhavia erecta*, *Cleome viscosa*, *Cucurbita moschata*, *Cucurbita pepo*, *Luffa cylindrica*, *Nicandra physalodes* y una maleza de la familia solanácea fueron positivas a geminivirus; *Luffa cylindrica* con potyvirus y *Cucurbita pepo* con una infección mixta de geminivirus y potyvirus. Aunque en chile y sandía se ha establecido la etiología de las principales enfermedades virales, 38% de muestras de chile, 77% de tomate y 23% de sandía resultaron negativas a los virus probados. Estos porcentajes pueden atribuirse a enfermedades virales de etiología desconocida, o patologías causadas por factores abióticos que deben identificarse.

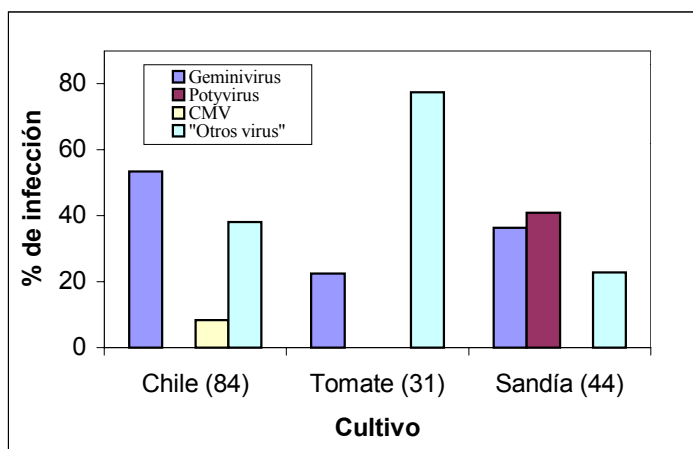
Palabras claves: Etiología, incidencia, infección viral, severidad.

NOTA DE PRENSA

Identificados los principales virus que afectan al chile, tomate y sandía en Honduras

Zamorano condujo un estudio entre marzo y junio de 2001, con el fin de identificar los principales virus que afectan a los cultivos de chile, tomate y sandía en Honduras. En Comayagua, Copán, Choluteca, Güinope, Olancho, Valle y Zamorano. Se recolectaron 204 muestras con síntomas virales de los cultivos de chile, tomate, sandía y 37 malezas encontradas en asocio a estos cultivos.

En chile, los principales virus encontrados fue un grupo llamado geminivirus (54%) que es transmitido por la mosca blanca. Además, se encontró 8% del virus del mosaico del pepino (CMV) transmitido por áfidos y mecánicamente, y 44% de muestras presentaban ambos virus (geminivirus y CMV). En tomate se encontró 23% de geminivirus.



En chile y tomate se hicieron pruebas para identificar la presencia del virus de la marchitez manchada del tomate y para un grupo de virus llamado potyvirus, las muestras resultaron negativas. En sandía se encontró 36% de geminivirus, 41% de potyvirus, que son transmitidos por áfidos y mecánicamente y 23% de muestras con los dos virus, geminivirus y potyvirus.

Gráfica 1. Virus encontrados en el estudio

En las malezas analizadas, la *Boerhavia erecta* (pata de paloma), *Cleome viscosa* (tabaquillo), *Cucurbita moschata* (calabaza), *Cucurbita pepo* (ayote), *Luffa cylindrica* (paste), *Nicandra physalodes* (tomatillo) y una maleza de la familia solanácea fueron positivas a geminivirus; *Luffa cylindrica* fue positiva a potyvirus y *Cucurbita pepo* presentó dos virus en una misma muestra (geminivirus y potyvirus).

Aunque con el presente estudio se han identificado algunos de los principales virus que afectan al cultivo de chile y sandía en Honduras, un 38% de las muestras de chile, 77% de tomate y 23% de sandía resultaron negativas a los virus probados, por lo que los estudios para determinar otros virus presentes continúan.

Las muestras se analizaron en el laboratorio de diagnóstico de Zamorano, utilizando dos técnicas, PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) que permite identificar geminivirus al incrementar la cantidad de ADN del virus, en caso de estar presente en una muestra se puede observar; y la técnica ELISA (Ensayo Inmunoabsorbente ligado a una enzima) con

la que se identificó el virus del mosaico del pepino y potyvirus; esta técnica permite detectar un virus en una muestra de planta por medio de la identificación de la proteína del virus.

Los problemas por virus en los cultivos de chile, tomate y sandía, se han incrementado en los últimos años, disminuyendo los rendimientos y causando grandes pérdidas a los productores. La importancia de identificar los virus que afectan a estos cultivos radica en que se puede lograr un manejo eficiente del virus en el campo, al conocer las formas de transmisión específica del virus y además determinar las especies de plantas que pueden ser afectadas. Además, las malezas que se encuentran dentro y en los alrededores del cultivo pueden ser hospederos de virus e insectos vectores y podrían ser fuente de diseminación del virus en el cultivo. En la actualidad Zamorano trabaja en la identificación de virus en los principales cultivos hortícolas con el fin de diseñar e implementar planes de manejo de infecciones virales en las principales zonas de producción de estos cultivos.

Sobeyda Alvarez, Licda.

CONTENIDO

Portadilla	i
Autoría	ii
Página de firmas	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos	v
Agradecimiento a patrocinadores	vi
Resumen	vii
Nota de prensa	viii
Contenido	x
Indice de cuadros	xiii
Indice de figuras	xiv
Indice de gráficas	xvi
Indice de anexos	xvii
1. INTRODUCCION.....	1
1.1 OBJETIVOS.....	2
1.1.1 Objetivo General.....	2
1.1.2 Objetivos Específicos.....	2
2. REVISION DE LITERATURA.....	3
2.1 MECANISMOS DE TRANSMISION DE VIRUS A LAS PLANTAS.....	3
2.1.1 Transmisión de virus por vectores.....	3
2.2 PROBLEMATICA DEL COMPLEJO MOSCA BLANCA-GEMINIVIRUS....	4
2.3 DIAGNOSTICO DE INFECCIONES VIRALES EN CULTIVOS HORTICOLAS Y MALEZAS EN HONDURAS.....	6
2.3.1 Determinación de los virus de melón y sus malezas hospederas en Choluteca, Honduras (1991).....	6
2.3.2 Caracterización de Geminivirus presentes en frijol, tomate, otros vegetales y malezas en Comayagua y Zamorano (1998-1999).....	8
2.3.3 Diversidad de Begomovirus en América Central y el Caribe.....	11
2.3.4 Diagnóstico de geminivirus y potyvirus en chile y sandía en Comayagua, Olancho y Valle, Honduras (2000).....	12
2.4 GENERALIDADES SOBRE LOS PRINCIPALES VIRUS QUE AFECTAN AL CHILE, TOMATE Y CUCURBITACEAS.....	13
2.4.1 Potyvirus.....	14
2.4.2 Geminivirus.....	20
2.4.3 Cucumovirus.....	24
2.4.4 Tospovirus.....	26

3. MATERIALES Y METODOS.....	28
3.1 DIAGNOSTICO PRELIMINAR.....	28
3.2 MUESTREO.....	29
3.2.1 Cultivos muestreados y su ubicación.....	29
3.2.2 Recolección e identificación de las muestras.....	31
3.3 PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS EN EL LABORATORIO.....	31
3.3.1 Preservación del tejido foliar.....	31
3.3.2 Diagnóstico de virus de ADN: geminivirus.....	32
3.3.3 Diagnóstico de virus de ARN.....	33
4. RESULTADOS Y DISCUSION.....	35
4.1 RESULTADOS DEL DIAGNOSTICO PRELIMINAR.....	35
4.1.1 Resultados del diagnóstico preliminar en tomate.....	35
4.1.2 Resultados del diagnóstico preliminar en chile.....	35
4.1.3 Resultados del diagnóstico preliminar en sandía y melón.....	35
4.2 CHILE.....	35
4.2.1 Resultados del análisis de geminivirus.....	36
4.2.2 Resultados del análisis de virus de ARN.....	37
4.3 TOMATE.....	38
4.3.1 Resultados del análisis de geminivirus.....	39
4.3.2 Resultados del análisis de virus de ARN.....	39
4.4 SANDIA.....	40
4.4.1 Resultados del análisis de geminivirus.....	41
4.4.2 Resultados del análisis de virus de ARN.....	41
4.5 OTROS CULTIVOS.....	42
4.6 MALEZAS.....	42
4.7 RESULTADOS EN CONJUNTO.....	44
4.7.1 Comparación de la infección por geminivirus en chile, tomate y sandía en los años 1999 y2001 en Honduras.....	44
4.7.2 Comparación de la infección por geminivirus, potyvirus, virus del mosaico del pepino (CMV) y otros virus de etiología desconocida, encontrados en chile, tomate y sandía en Honduras (2001).....	46
5 CONCLUSIONES.....	50

6. RECOMENDACIONES.....	52
7. BIBLIOGRAFIA.....	54
8. ANEXOS.....	58

INDICE DE CUADROS

1.	Malezas hospederas de virus reportadas en Choluteca, Honduras (1991).....	7
2.	Porcentaje de infección por geminivirus determinada por PCR en diferentes cultivos y malezas en el Valle de Comayagua y Zamorano. Enero-mayo (1999).	9
3.	Malezas recolectadas para análisis por PCR para geminivirus universal en el Valle de Comayagua y Zamorano. Enero-julio (1999).....	10
4.	Geminivirus identificados mediante caracterización molecular en América Central, Jamaica y República Dominicana (2001).....	12
5.	Porcentaje de muestras de chile positivas a geminivirus y potyvirus por lugar de muestreo. Honduras. Enero-abril (2000).....	12
6.	Porcentaje de muestras de sandía positivas a geminivirus y potyvirus por lugar de muestreo. Honduras. Enero-abril (2000).....	13
7.	Virus específicos seleccionados para diagnóstico en AGDIA a muestras de chile, tomate, sandía y melón. USA. Febrero (2001).....	29
8.	Cantidad de muestras de chile, tomate y sandía recolectadas de acuerdo al cultivo y lugar de muestreo. Honduras. Marzo-junio (2001).....	30
9.	Otros cultivos recolectados de acuerdo al lugar de muestreo. Honduras. Marzo-junio (2001).....	30
10.	Incidencia y severidad de infecciones virales observada por síntomas en las plantaciones de chile por lugar de muestreo. Honduras. Marzo-junio (2001)....	36
11.	Porcentaje de muestras de chile positivas a geminivirus, potyvirus, virus del mosaico del pepino (CMV) y virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV) por lugar de muestreo. Honduras. Marzo-junio (2001).....	36
12.	Incidencia y severidad de infecciones virales observada por síntomas en las plantaciones de tomate por lugar de muestreo. Honduras. Marzo-junio (2001).	38
13.	Porcentaje de muestras de tomate positivas a geminivirus, potyvirus, virus del mosaico del pepino (CMV) y virus de la marchitez manchada del tomate por lugar de muestreo. Honduras. Marzo-junio (2001).....	39
14.	Incidencia y severidad observada por síntomas en las plantaciones de sandía por lugar de muestreo. Honduras. Marzo-junio (2001).....	40

15. Porcentaje de muestras de sandía positivas a geminivirus, potyvirus, virus del mosaico del pepino (CMV) e infecciones mixtas por lugar de muestreo. Honduras. Marzo-junio (2001)..... 40
16. Porcentaje de muestras de berenjena, melón, okra china, pepino y pepino peludo positivas a geminivirus, potyvirus y virus del mosaico del pepino (CMV) por lugar de muestreo. Honduras. Marzo-junio (2001)..... 42
17. Malezas recolectadas de acuerdo al cultivo y lugar donde se encontraron. Honduras. Marzo-junio (2001)..... 43

INDICE DE FIGURAS

1.	Partículas de un potyvirus.....	14
2.	Partículas de un geminivirus.....	20
3.	Partículas de un cucumovirus.....	24
4.	Partículas de un tospovirus.....	26
5.	Fotografía de una gel de electroforesis mostrando los resultados de las muestras de chile de Valle.....	37
6.	Fotografías de chile, tomate y cucurbitáceas con síntomas virales y su diagnóstico.....	48

INDICE DE GRAFICAS

1. Infección de geminivirus en Zamorano, 1998 y 1999.....	11
2. Infección por geminivirus en chile, tomate y sandía en Honduras en 1999.....	45
3. Infección de geminivirus, potyvirus, virus del mosaico del pepino (CMV) y otros virus (de etiología desconocida) en chile, tomate y sandía en Honduras. Marzo-junio (2001).....	46

INDICE DE ANEXOS

1. Extracción de ADN total (planta y viral), modificación de Doyle & Doyle (1990), FOCUS 12 (1): 13-15. Extracción Miniprep de ADN.....	58
2. Diagrama de amplificación de ADN usando la técnica de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa).....	61
3. Protocolos para la prueba ELISA directa e indirecta proporcionados por AGDIA...	61
4. Diagrama de ELISA directa.....	68
5. Lista de los virus reportados en tomate, chile y sandía a nivel mundial.....	69
6. Descripción de las muestras recolectadas de acuerdo al cultivo y lugar.....	71

1. INTRODUCCION

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).

Uno de los principales problemas en el desarrollo de programas de manejo de virus es la falta de información básica sobre su epidemiología. En Honduras, existe muy poca información sobre los virus que afectan a los cultivos, sus relaciones con vectores y hospederos (Espinoza, 1991), y la identificación de infecciones virales generalmente se ha hecho en base a sintomatología.

Existe la percepción errónea de que todas las enfermedades virales, llamadas localmente virosis, son causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca, por lo que el manejo se ha basado en el uso excesivo de insecticidas para controlar al vector, lo que ha traído como consecuencia resistencia, contaminación ambiental, daño a la salud humana, grandes pérdidas económicas e ineficiencia en el manejo de virus (Doyle *et al.*, 1999).

Cada virus tiene vectores, formas de transmisión y hospederos específicos, por tanto el conocimiento o diagnóstico correcto de éstos, constituye la base para un manejo eficiente. Debido a esto, programas internacionales como el IPM (“Integrated Pest Management”) y el “Bean Cow-Pea CRSP” (“Collaborative Research Support Program”) donde participa Zamorano y otros dirigidos por el CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación Agrícola) y el CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical), entre otros, iniciaron en 1997 un estudio con énfasis en expandir el conocimiento epidemiológico del complejo mosca blanca/geminivirus y determinar otros grupos de virus que están afectando a cultivos hortícolas de importancia económica y social en Honduras como tomate, chile, cucurbitáceas y sus malezas (Doyle *et al.*, 1999).

En 1998 y 1999 se recolectaron muestras con síntomas virales de los cultivos de tomate, chile, sandía, malezas, entre otros, de los valles de Comayagua y Francisco Morazán; las muestras fueron analizadas mediante la técnica de PCR (Reacción en cadena de la Polimerasa) encontrándose en promedio un 30% de infecciones virales causadas por geminivirus en 1998 y 48% de infecciones por geminivirus en 1999. Por lo tanto un poco más del 50% de muestras sintomáticas resultaron negativas a geminivirus, atribuyéndose a otros virus o patologías causadas por factores abióticos. Por lo que el siguiente paso fue determinar que otros grupos de virus están afectando a los cultivos de chile, tomate y cucurbitáceas.

El presente trabajo constituye parte de este estudio que tiene como objetivos identificar otros grupos de virus que están afectando a estos cultivos en Honduras. Debido a la gran cantidad de virus que afectan al chile, tomate y sandía, se limita el número de virus para los que se puede probar y la cantidad de muestras a probar. El estudio continuará en el año 2002 ampliando el número de virus y muestras a probar.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo general

Identificar las principales enfermedades virales que afectan a los cultivos de chile, tomate, sandía y las malezas asociadas a estos cultivos, como base para desarrollar programas de manejo.

1.1.2 Objetivos específicos

- Obtener información para entender la dinámica de las infecciones virales en los cultivos de chile, tomate y sandía.
- Determinar la presencia y porcentaje de infecciones virales en los cultivos de chile, tomate y sandía causadas por geminivirus, potyvirus y virus del mosaico del pepino (CMV).
- Diagnosticar la presencia del virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV), en muestras de tomate y chile.
- Determinar si las malezas más comunes encontradas en asocio a los cultivos de chile, tomate y sandía tienen infecciones causadas por geminivirus, potyvirus y CMV, ya que podrían ser hospederas de estos virus.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 MECANISMOS DE TRANSMISION DE VIRUS A LAS PLANTAS

Los virus fitopatógenos son transmitidos a las plantas mediante la propagación vegetativa, mecánicamente a través de la savia, por medio de semillas, polen, vectores y la cúscuta. Los virus no son diseminados por el viento o agua. Cuando se transportan en la savia o residuos vegetales, generalmente no producen infecciones, a menos que entren en contacto con los contenidos de una célula viva dañada (Agrios, 1995).

La transmisión de virus mediante propagación vegetativa y por semilla, son importantes porque permiten que el virus sea transmitido entre generaciones de plantas (infección primaria), por lo tanto, ocasionan solamente enfermedades monocíclicas, pero no tienen importancia en la propagación del virus de plantas enfermas a plantas sanas de una misma generación. A diferencia, la transmisión de virus mediante vectores como insectos, introducen el virus en el cultivo (infección primaria) y también lo transmiten de plantas infectadas a sanas de una misma generación y durante la misma estación de crecimiento (infecciones secundarias) (Agrios, 1995).

2.1.1 Transmisión de virus por vectores

Los vectores conocidos que transmiten virus son: insectos, nematodos, ácaros y hongos. Las enfermedades que producen éstos son policíclicas y el número de ciclos por estación puede variar de unos cuantos como en el caso de nematodos (2 a 5) a muchos, como los áfidos (10 a 20) (Agrios, 1995).

La transmisión de virus mediante vectores puede ser de dos formas:

- **Transmisión no persistente**: el vector es capaz de adquirir el virus de una planta enferma en un corto tiempo (minutos) y pierde rápidamente la capacidad de transmitirlo (minutos). La relación del virus y el vector es temporal (Agrios, 1995).
- **Transmisión semipersistente**: el virus es adquirido e inoculado en largas succiones al floema y puede ser retenido por horas o días (Agrios, 1995).
- **Transmisión persistente circulativa**: las partículas virales adquiridas por el insecto al alimentarse circulan dentro de su cuerpo pasando del intestino a la hemolinfa hasta llegar a las glándulas salivales, para volver a ser inyectado en otra planta hospedera (Sponagel y Fúnez, 1994).
- **Transmisión persistente propagativa**: El virus se multiplica y circula de la misma forma que la transmisión persistente circulativa y se propaga transováricamente a la progenie (Sponagel y Fúnez, 1994).

Agrios (1995) considera que el mecanismo de transmisión de virus más común y de mayor importancia económica en el campo es a través de insectos vectores, aunque los miembros de grupos de insectos que son vectores de virus son reducidos; el orden Homoptera tiene la mayor cantidad y los más importantes vectores, como áfidos (Aphidae), mosca blanca (Aleuroididae) y otros de menor importancia como escamas, piojos harinosos (Coccoidae), periquitos (Membracidae). Vectores de otros órdenes son los trips (Thysanoptera), escarabajos (Coleóptera), las chinches verdaderas (Hemiptera) y saltamontes (Orthoptera).

Los áfidos se encuentran entre los vectores más importantes de virus fitopatógenos y transmiten alrededor de 170 virus en forma no persistente en su mayoría (pocos lo transmiten de forma persistente circulativa); en general los áfidos adquieren el virus al alimentarse de una planta enferma durante períodos cortos de tiempo (30 segundos o menos) y los transmiten cuando se alimentan de una planta sana en un tiempo similar. El tiempo en que los áfidos pueden transmitir el virus desde que lo adquieren varía desde unos minutos a varias horas, después de lo cual ya no pueden transmitir el virus (Agrios, 1995).

Brown y Bird (1992) afirman que la mosca blanca (*B. tabaci*) es el vector de un grupo de virus fitopatógenos muy importante. La transmisión de geminivirus por mosca blanca es de tipo persistente circulativa, para la adquisición eficiente del virus, la mosca blanca necesita un tiempo de succión de 2-24 horas; es capaz de transmitir el virus después de 4-10 horas después de la adquisición y por un período de 5-20 días, mostrando una disminución gradual en la eficiencia de la transmisión.

Se ha demostrado también que los ácaros de la familia Eriophyidae transmiten nueve virus, la transmisión de virus es muy específica, debido a que estos ácaros tienen un rango de hospederos limitado y es el único vector conocido del virus que transmiten. Hay ácaros que transmiten virus en forma no persistente y persistente circulativa (Agrios, 1995).

Los nematodos de los géneros *Longidorus*, *Xiphinema*, *Trichodorus* y *Paratrichodorus*, en etapa larval y adulto pueden transmitir virus al alimentarse de raíces de plantas enfermas y luego pasar a plantas sanas. Estos no lo transmiten a la progenie, ni pasa a través de las mudas (Agrios, 1995).

2.2 PROBLEMATICA DEL COMPLEJO MOSCA BLANCA-GEMINIVIRUS

La mosca blanca (*Bemisia tabaci*) es considerada la especie más difundida y posiblemente más dañina presente en todas las zonas agrícolas y en muchos cultivos en Honduras desde hace muchos años. Hasta finales de los años 80 fueron consideradas plagas secundarias controlándose solamente en épocas y cultivos específicos (Sponagel y Fúnez, 1994).

A partir de 1989 la mosca blanca llegó a ser una plaga clave en América Central, Florida, México, el Caribe, Venezuela y Brazil. En Honduras afecta principalmente a los cultivos de tomate, chile, frijol, algodón y cucurbitáceas (Polston y Anderson, 1997).

El daño que causa la mosca blanca es directo e indirecto; el daño directo lo hace al succionar la savia y el daño indirecto excretando mielecilla donde se desarrolla la fumagina y como insecto transmisor de virus. El daño más serio que *B. tabaci* ocasiona es la transmisión de geminivirus lo que ha ocasionado las reducciones en rendimiento más grandes en Honduras y el abandono de cultivos especialmente en tomate y chile (Sponagel y Fúnez, 1994).

Las razones del cambio de *B. tabaci* de una especie inocua a una plaga clave y vector de virus importante no se conocen realmente, sin embargo, los cambios en las prácticas agrícolas locales y regionales, la expansión del monocultivo bajo irrigación de hortalizas, la expansión de épocas de cultivo debido al uso de variedades mejoradas, la introducción y resistencia subsecuente de poblaciones del insecto a nuevos plaguicidas y el incremento del transporte mundial de plantas y productos vegetales posiblemente han contribuido al problema (Brown, 1992).

En el valle de Comayagua en 1992, se estimó que la reducción en rendimiento en tomate por virosis atribuida a mosca blanca fue mayor al 70% (Caballero y Rueda, 1993). El Valle de Comayagua es la zona más importante de producción de vegetales en Honduras por parte de pequeños y grandes productores. El complejo mosca blanca-geminivirus es muy difícil de manejar con este tipo de sistema de cultivo mixto, porque muchos de los cultivos sirven como hospederos de vectores como mosca blanca (Doyle *et al.*, 1999).

Alvarez *et al.* (1993) mencionan que en República Dominicana, en 1988, debido a una explosión de *B. tabaci* que tuvo grandes repercusiones y pérdidas económicas, especialmente en plantaciones de tomate, condujo a que la Secretaría de Estado de Agricultura formara una comisión nacional de manejo de mosca blanca, donde se impusieron medidas legales, como regulación de épocas de siembra de los cultivos y eliminación de rastrojos. Debido al cumplimiento de estas disposiciones a nivel nacional, se pudo manejar exitosamente el complejo mosca blanca-geminivirus y disminuir la incidencia de geminivirus en cultivos hortícolas ¹

La incidencia y severidad de infecciones virales en cultivos como tomate, chile y cucurbitáceas se ha incrementado desde inicios de los 90, lo cual coincide con el cambio de “status” de mosca blanca de una plaga secundaria a una plaga clave, observándose altas poblaciones de mosca blanca en zonas como Comayagua; sumado a esto, el poco entendimiento sobre la biología y ecología de la mosca blanca, el poco conocimiento e información sobre la epidemiología de infecciones virales y, a que la identificación de éstas generalmente se ha realizado en base a sintomatología, ha ocasionado que la mayoría de infecciones virales o amarillamientos sean erróneamente atribuidas a geminivirus transmitidos por mosca blanca (Doyle *et al.*, 1999).

¹ Doyle, M. 2001. Manejo del complejo mosca blanca-geminivirus en República Dominicana. Zamorano, Honduras. (Comunicación personal).

Debido a eso, el manejo de la virosis se ha enfatizado en el manejo de mosca blanca, basado en el uso excesivo de insecticidas, lo que ha traído como consecuencia resistencia, contaminación ambiental, daño a la salud humana, grandes pérdidas económicas e ineficiencia en el manejo de los virus (Doyle *et al.*, 1999).

El complejo mosca blanca-geminivirus causa un daño de mucha importancia en la producción de tomate y chile en Honduras. En tomate en el valle de Comayagua, Hilje y Arboleda (1993) estimaron que la reducción en la producción a causa de enfermedades virales transmitidas por *Bemisia tabaci* fue mayor al 70% con pérdidas por más de US\$ 4 millones. Estas estimaciones se hicieron basado en la población de mosca blanca en el lugar. Sin embargo posiblemente se ha sobreestimado su importancia al atribuir a todas las enfermedades de carácter viral como geminivirus. Existe la incertidumbre sobre que otros grupos de virus y en que medida están afectando a estos cultivos.

Debido a esto, programas internacionales como el IPM (“Integrated Pest Management”) y el “Bean Cow-Pea CRSP” (“Collaborative Research Support Program”) donde participa Zamorano y otros dirigidos por el CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación Agrícola), el CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical), REDCAHOR (Red colaborativa de investigación y desarrollo de las hortalizas para América Central, Panamá y República Dominicana) entre otros, iniciaron en 1997 un estudio con énfasis en expandir el conocimiento epidemiológico del complejo mosca blanca/geminivirus y determinar otros grupos de virus que están afectando a cultivos hortícolas de importancia económica y social en Honduras como tomate, chile, cucurbitáceas y sus malezas (Doyle *et al.*, 1999), para poder determinar con certeza la importancia y porcentaje de infecciones virales causadas por geminivirus y otros grupos de virus como base para un manejo eficiente.

2.3 DIAGNOSTICO DE INFECCIONES VIRALES EN CULTIVOS HORTICOLAS Y MALEZAS EN HONDURAS

2.3.1 Determinación de los virus de melón y sus malezas hospederas en Choluteca, Honduras (1991)

Valdivia (1991) entre noviembre de 1990 y abril de 1991 realizó un estudio en Choluteca, con el fin de determinar los virus que afectaban lotes comerciales de melón, identificar las malezas hospederas de virus de cucurbitáceas e identificar los insectos vectores y su papel en la transmisión viral. Mediante la prueba de ELISA (“Enzyme Linked Immunosorbent Assay”, Ensayo Inmunoabsorbente ligado a una enzima) se detectó en melón el “Cucumber mosaic virus” (CMV) (virus del mosaico del pepino), “Watermelon mosaic virus 1 (WMV1) (Virus del mosaico de la sandía 1, “Watermelon mosaic virus 2” (WMV2) (Virus del mosaico de la sandía 2) y el “Zucchini yellow mosaic virus” (ZYMV) (Virus del mosaico amarillo del zucchini), el primero del grupo cucumovirus y los restantes del grupo potyvirus, así como la presencia de infecciones compuestas, con combinaciones entre todos los virus analizados, siendo las más comunes CMV-WMV1 y WMV1-WMV2.

En cuanto a malezas, Valdivia (1991) reportó en Choluteca, Honduras en los alrededores, dentro y en las orillas de plantaciones de melón varias especies de malezas hospederas de virus, se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Malezas hospederas de virus reportadas en Choluteca, Honduras (1991).

Maleza	CMV	WMV1	WMV2	SMV	ZYMV
<i>Amaranthus spinosus</i>	-	-	+	-	+
<i>Boerhavia erecta</i>	+	+	+	-	+
<i>Calotropis procera</i>	+	-	-	-	-
<i>Cleome viscosa</i>	+	-	-	-	+
<i>Cucumis anguria</i>	-	+	+	-	-
<i>Cucumis melo</i>	+	+	+	-	-
<i>Cucurbita pepo</i>	+	+	+	+	+
<i>Malva sp.</i>	-	+	-	-	-
<i>Margaranthus solanacearum</i>	+	-	+	-	-

CMV: "Cucumber mosaic virus" WMV2: "Watermelon mosaic virus 2"

WMV1: "Watermelon mosaic virus 1" SMV: "Squash mosaic virus"

ZYMV: "Zucchini yellow mosaic virus"

Fuente: Valdivia (1991).

2.3.1.1 Importancia de las malezas como hospederas de virus

Las malezas como hospederos alternos de virus, juegan un papel muy importante en la epidemiología viral. Las malezas y plantas voluntarias de cultivos anteriores en la misma plantación y en lugares cercanos a las plantaciones sirven de refugio para vectores y son hospederos de virus (Maelzer 1986, citado por Valdivia 1991). Posiblemente los problemas que surgen con infecciones virales en los cultivos estén relacionados con la presencia de malezas reservorias de virus y/o de insectos vectores y cultivos viejos en los alrededores de la plantación, siendo fuente de inóculo para las nuevas siembras (Valdivia, 1991).

Cuando las condiciones ecológicas son desfavorables para la sobrevivencia de vectores como áfidos y mosca blanca es necesario identificar a las malezas que permitan la sobrevivencia de los vectores durante el invierno y verano. La falta del inóculo de virus, y no la falta de vectores es probablemente la razón de la ausencia de epidemias de virus. (Lastres, 1991).

Lastres (1991) afirma que la eliminación de malezas y plantas voluntarias infectadas por virus, sanidad y siembra en tiempo apropiado son métodos efectivos en la reducción de la diseminación de virus. El combate de infecciones virales es puramente preventivo, no curativo, por tanto la eliminación de las fuentes de inóculo es el método más efectivo de prevención (Valdivia *et al.*, 1992).

Sin embargo, debe considerarse que la eliminación de malezas no siempre reduce la incidencia de virus en un cultivo, en algunos casos puede incrementar la infección ya que induce al vector a moverse de las malezas al cultivo (Lastres, 1991).

2.3.2 Caracterización de Geminivirus presentes en frijol, tomate, otros vegetales y malezas en Comayagua y Zamorano (1998-1999)

Este estudio se realizó por personal de Zamorano como parte de los programas IPM-CRSP y Bean Cow-Pea CRSP, que iniciaron en el año 1998. Entre enero y julio de 1998 se recolectaron 170 muestras con síntomas de virus (mosaico, moteado, amarillamiento, corrugamiento de hojas y achaparramiento de la planta) de los valles de Francisco Morazán y Comayagua, incluyendo frijol, tomate, chile dulce, pepino, sandía y 22 tipos de malezas, con el objetivo de determinar el porcentaje de plantas con síntomas virales infectadas con geminivirus (Doyle *et al.*, 1999).

Las muestras fueron analizadas por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). Para esto se contaban con dos grupos de iniciadores o "primers" universales: 514 y 1048 para geminivirus proporcionados por la Universidad de Arizona y los "primers" 715 y 1978 proporcionados por la Universidad de Wisconsin (USA). También se contaba con dos pares de "primers" específicos: el par de "primers" 47/1068 desarrollado para la detección del "Bean golden mosaic virus" (BGMV) (presente en Honduras) desarrollado en la Universidad de Wisconsin y los "primers" para el "Tomato yellow leaf curl virus" (TYLCV) desarrollados en Israel (Doyle *et al.*, 1999).

En ese estudio, se utilizaron los "primers" AV 514 y AC 1048, desarrollados para amplificar el gen de la cápside proteica de geminivirus del subgrupo III (Begomoviridae). El gen de la cápside proteica (CP) es la región más conservada del genoma de la familia Geminiviridae, haciéndolo muy útil para el diagnóstico e investigación de la historia evolutiva viral. Estos "primers" amplifican un producto de PCR de un peso molecular de 576 pb (pares de bases) nitrogenadas (Brown y Wyatt, 1997²).

En este estudio (1998) solo un 30% de las muestras resultaron positivas a geminivirus. Entre enero y mayo de 1999, el período correspondiente a la estación seca, cuando existe la mayor presión del complejo mosca blanca-geminivirus, un segundo estudio se condujo para confirmar los resultados obtenidos en 1998 y para tener más información que pudiera contribuir a entender el predominio de la infección por geminivirus en diferentes cultivos y estaciones en Honduras (Doyle *et al.*, 1999).

En el segundo estudio (1999) se recolectaron 189 muestras con síntomas de virus del valle de Comayagua y Zamorano, incluyendo frijol, tomate, chile dulce, sandía, papaya y malezas. Se realizó una descripción de los síntomas de las muestras y se estimó el porcentaje de infección (incidencia) por virus en cada plantación de donde se obtuvieron las muestras basado en síntomas visuales. Las muestras fueron analizadas por PCR probando para geminivirus universal. Un 48% de las muestras resultaron positivas a geminivirus (cuadro 2) (Doyle *et al.*, 1999).

Cuadro 2. Porcentaje de infección por geminivirus determinada por PCR en diferentes cultivos y malezas en el Valle de Comayagua y Zamorano. Enero-mayo (1999).

CULTIVO	TOTAL DE MUESTRAS	POSITIVAS-CULTIVO (%)
Frijol	42	48
Tomate	36	78
Sandía	45	51
Chile dulce	28	71
Malezas	24	42
Papaya	14	0
Total	189	48

Fuente: Doyle *et al.*(1999), modificado por el autor.

Un 48% de las muestras con síntomas de infección viral resultaron positivas a geminivirus en 1999 (cuadro 2), el 52% de las muestras restantes con sintomatología viral podrían atribuirse a otros virus diferentes de geminivirus transmitidos por mosca blanca, deficiencias nutricionales u otras causas (Doyle *et al.*, 1999).

En 1999, sólo en el Valle de Comayagua 162 muestras fueron analizadas. Un 55% de éstas resultaron positivas a geminivirus. En malezas en el valle de Comayagua y Zamorano un 42% de las muestras resultaron positivas a geminivirus, las malezas recolectadas se muestran en el cuadro 3.

En ese estudio se identificaron a *Nicandra physalodes*, *Abutilon spp*, *Sida acuta*, *Euphorbia heterophylla*, *Malvastrum coromandelianum* y *Wissadula excelsior*, como malezas hospederas de geminivirus. Sin embargo para establecer que una especie de maleza es hospedera alterna de un virus específico es necesario identificar el tipo de virus, para esto es necesario secuenciar por lo menos un producto de PCR, o utilizar un anticuerpo específico (monoclonal) e identificar el o los vectores del virus y hacer pruebas de transmisión ²

Cuadro 3. Malezas recolectadas para análisis por PCR para geminivirus universal en el Valle de Comayagua y Zamorano. Enero-Julio (1999).

MALEZA	ORIGEN	PCR PARA GEMINIVIRUS
<i>Nicandra physalodes</i>	Las Flores, Co.	+

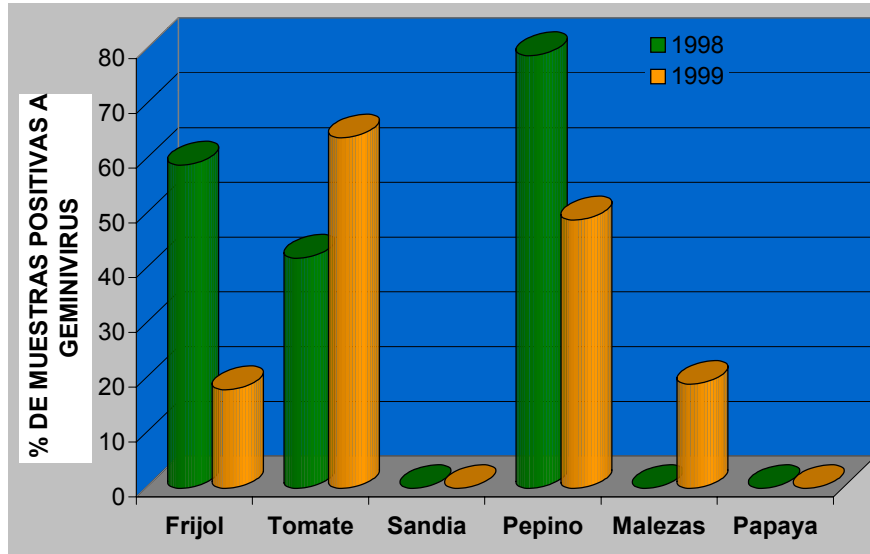
² Doyle, M. 2001. Determinación de malezas como hospederos alternos de virus. Zamorano, Honduras. (Comunicación personal).

<i>Abutilon spp.</i>	San Nicolás, Co.	+
<i>Sida acuta</i>	Los Castaños, Co.	+
No identificada	Voluntades Unidas, Co	+
<i>Euphorbia heterophylla</i>	Zamorano, zona I	+
<i>Euphorbia heterophylla</i>	Villa de San Antonio, Co.	+
No identificada	Las Flores, Co.	+
<i>Malvastrum coromandelianum</i>	Palo Pintado, Co.	+
No identificada	Palo Pintado, Co.	+
<i>Malvastrum coromandelianum</i>	Palo Pintado, Co.	+
<i>Wissadula excelsior</i>	CEDA, Co.	+
<i>Titonia spp.</i>	Cascabeles, Co.	-
<i>Sida acuta</i>	Los Castaños, Co.	-
<i>Nicandra physalodes</i>	Zamorano, zona II	-
<i>Nicandra physalodes</i>	Zamorano, zona III	-
<i>Abutilon spp.</i>	San Nicolás, Co.	-
<i>Malvastrum coromandelianum</i>	San Nicolás, Co.	-
<i>Boerhavia erecta</i>	San Nicolás, Co.	-
<i>Sida spp.</i>	San Nicolás, Co.	-
<i>Melampodium divaricatum</i>	Zamorano, Zona II	-
<i>Physallis ignota</i>	Villa de San Antonio, Co.	-
<i>Titonia spp.</i>	Villa de San Antonio, Co.	-
<i>Amaranthus spp.</i>	Villa de San Antonio, Co.	-
<i>Physallis ignota</i>	Villa de San Antonio, Co.	-
<i>Nicandra physalodes</i>	Zamorano, Zona III	-
<i>Rhynchosia jalapiensis</i>	Parcelas de tomate, Co	-
<i>Rhynchosia minima</i>	Parcelas de maíz, Co.	-
<i>Wissadula amplissima</i>	Valle de Comayagua, Norte	-

+ : positivo a geminivirus. -: negativo a geminivirus. Fuente: (Doyle *et al.*, 1999¹), modificado por el autor.

La diferencia encontrada entre los años 1998 y 1999 de 30% y 48% de geminivirus en Honduras respectivamente, se piensa que no fue por un aumento de infección por geminivirus de un año a otro; sino que pudo deberse a la metodología de muestreo, ya que en el año de 1999 se tuvo un mejor criterio de muestreo y mayor práctica, descartando muestras con infecciones por factores abióticos como deficiencias nutricionales o toxicidades que causaban síntomas similares a geminivirus en la planta³. En la gráfica 1 puede observarse la infección por geminivirus solamente en Zamorano comparando los años 1998 y 1999.

³ DOYLE, M.M. 2001. Diagnóstico de geminivirus en cultivos hortícolas en Honduras en los años 1998 y 1999. Zamorano, Honduras. Comunicación personal.



Gráfica 1. Infección de geminivirus en Zamorano, 1998 y 1999.

2.3.3 Diversidad de Begomovirus en América Central y el Caribe

Maxwell *et al.* (2001), en América Central, Jamaica y República Dominicana, detectaron ocho geminivirus afectando a tomate los cuales se caracterizaron molecularmente en la Universidad de Wisconsin, Estados Unidos. En el cuadro 4 se presenta el nombre del virus y el país en el que se detectó.

Además, en Honduras se detectaron dos virus asociados a malezas, el "Rhynchosia golden mosaic virus" (RGMV) y el "Euphorbia mosaic virus" (EMV) (Doyle *et al.*, 2001). Hasta la fecha, en Honduras, no se ha encontrado el "Tomato yellow leaf curl virus" (TYLCV). Considerando que se ha reportado el TYLCV en países como Jamaica y República Dominicana, Doyle⁴ recomienda que debería hacerse evaluaciones continuas para determinar la presencia o ausencia de este virus en Honduras.

Cuadro 4. Geminivirus identificados mediante caracterización molecular en América Central, Jamaica y República Dominicana (2001).

Geminivirus	H	G	C.R.	J	N	R.D.

⁴ Doyle (2001). "Tomato yellow leaf curl virus". Zamorano, Honduras. Comunicación personal.

"Tomato severe leaf curl"	•	•			•	
"Tomato mild mottle"	•	•				
"Tomato mosaic Havana"	•					
"Tomato yellow mottle"			•			
"Tomato golden mottle"		•				
"Tomato mosaic Havana (JM1)"				•		
"Tomato yellow leaf curl"				•		•
"Tomato leaf curl Sinaloa"		•	•			

• : Se encontró el virus. C.R.: Costa Rica. G: Guatemala. H: Honduras. J: Jamaica. N: Nicaragua. R.D.: República Dominicana.

Fuente: Maxwell *et al.*(2001). Modificado por el autor.

2.3.4 Diagnóstico de geminivirus y potyvirus en chile y sandía en Comayagua, Olancho y Valle, Honduras (2000)

Guamán (2000) realizó un estudio entre enero y abril del 2000 diagnosticando visualmente y por métodos de laboratorio, 50 muestras con síntomas diversos de virus en el cultivo de chile y 40 muestras de sandía utilizando PCR para geminivirus universal y ELISA para potyvirus.

En Chile, un 90% de las muestras fueron plantas sintomáticas a infecciones virales y un 10% de plantas asintomáticas y la maleza *Amaranthus hybridus* (Guamán, 2000). Se muestran los resultados del estudio (cuadro 5).

Cuadro 5. Porcentaje de muestras de Chile positivas a geminivirus y potyvirus por lugar de muestreo. Honduras. Enero-abril (2000).

Lugar	Muestras recolectadas	Positivas a geminivirus (%)	Positivas a potyvirus (%)
Comayagua	28	93.0	0
Zamorano	22	82.0	0
Total	50	88.0	0

Fuente: Guamán (2000).

El análisis mostró una infección de 88% de geminivirus y un 0% de potyvirus, quedando un 12% de infecciones virales o patologías de etiología desconocida. En Chile, la comparación del diagnóstico visual de geminivirus con análisis de laboratorio fue más efectiva comparada a sandía que fue muy baja, pero se comprobó que el diagnóstico visual en infecciones virales no es confiable (Guamán, 2000).

En sandía se analizaron 40 muestras de las cuales un 87.5% correspondían a plantas sintomáticas, las restantes a plantas asintomáticas. Los resultados de PCR y ELISA de acuerdo al sitio de muestreo pueden observarse en el cuadro 6.

Cuadro 6. Porcentaje de muestras de sandía positivas a geminivirus y potyvirus por lugar de muestreo. Honduras. Enero-abril (2000).

Lugar	Muestras recolectadas	Positivas a geminivirus (%)	Positivas a potyvirus (%)
Valle	20	15	20
Olancho	20	5	25
Total	40	10	22.5

Fuente: Guamán (2000).

En sandía los resultados de PCR mostraron un 10% de geminivirus, de las cuales tres muestras fueron recolectadas en el Departamento de Valle y una en Olancho. La prueba de ELISA mostró un 22.5% de potyvirus en sandía, quedando un 67.5% de infecciones virales o patologías de etiología desconocida.

En el estudio se concluyó que el grupo geminivirus constituye la problemática más común e importante en el cultivo de chile en las zonas muestreadas. Esto contrasta con el cultivo de sandía, donde los resultados sugirieron que las enfermedades virales del grupo potyvirus son más limitantes que las del grupo geminivirus en las dos zonas muestreadas.

Se recomendó continuar el estudio de enfermedades virales en chile y sandía mediante pruebas de ELISA probando para otros grupos de virus en el caso de chile y para virus específicos dentro del grupo potyvirus en sandía para poder determinar los virus específicos presentes y la presencia de infecciones mixtas (Guamán, 2000).

2.4. GENERALIDADES SOBRE LOS PRINCIPALES VIRUS QUE AFECTAN AL CHILE, TOMATE Y CUCURBITACEAS

A nivel mundial, se han reportado alrededor de 136 virus específicos afectando al cultivo de tomate (*Lycopersicum esculentum*), 49 al cultivo de chile (*Capsicum sp.*) y 27 a la sandía (*Citrullus lanatus*) (Anexo 5) (Brunt *et al.*, 1996).

2.4.1 Potyvirus

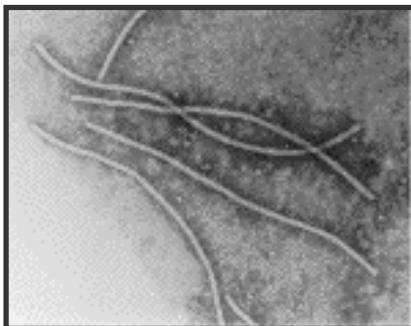


Figura 1. Partículas de un potyvirus. Fuente: SANDER, D (2001).

2.4.1.1 “Watermelon mosaic virus 1” (WMV1)

Virus del mosaico de la sandía 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

Síntomas: 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, pepino y melón (Brunt *et al.*, 1996).

Transmisión: Alrededor de 20 especies de áfidos en forma no persistente, incluyendo *Myzus persicae* y *Aphis gossypii*. 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.⁵

⁵ Lastres, L. 2001. Eficiencia de los métodos de control de virus en cucurbitáceas. Choluteca, Honduras. (Comunicación personal).

- **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 (Rueda, 2000). 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 (Contreras, 2001).
- **Resistencia genética:** Se han identificado genes de resistencia en *Cucumis sativus*, *C. melo* y *Cucurbita spp.* y se han incorporado en cultivares comerciales. En sandía (*Citrullus lanatus*) no se han encontrado niveles satisfactorios de resistencia. El gen de la cubierta de proteína de WMV1 se ha introducido en la mayoría de cucurbitáceas (Zitter *et al.*, 1998).

2.4.1.2 “Watermelon mosaic virus 2” (WMV2)

Virus del mosaico de la sandía 2

Grupo: Potyvirus

Tipo de ácido nucleico: ARN de cadena simple.

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* y *Cucumis melo* 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 en forma no persistente incluyendo *Myzus persicae*. **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 morir⁵.
- **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 (Rueda, 2000). 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.*, 1996). Desinfección de herramientas y manos del personal que realice labores en el cultivo como amarre y tutoreo, para evitar transmisión entre plantas (Contreras, 2001).
- **Resistencia genética:** El gen de la cubierta de proteína del WMV2 ha sido introducido en algunos cultivares de "squash". Se ha identificado resistencia en *Cucumis sativus* (Zitter *et al.*, 1998).

2.4.1.3. “Zucchini yellow mosaic virus” (ZYMV)

Virus del mosaico amarillo del zucchini

Grupo: Potyvirus

Tipo de ácido nucleico: ARN de cadena simple

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 en forma no persistente, incluyendo *Aphis citricola* Patch, *A. gossypii*, *Macrosiphum euphorbiae* y *Myzus persicae*. 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 morir⁵.
- **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 (Rueda, 2000). 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.*, 1996). Desinfección de herramientas y manos del personal que realice labores en el cultivo como amarre y tutorio, para evitar transmisión entre plantas (Contreras, 2001).
- **Resistencia genética:** Se ha encontrado resistencia en líneas chinas de *Cucumis sativus* y *C. melo* de India. Todos los cultivares comerciales de *Citrullus lanatus* son susceptibles, pero la resistencia es disponible en algunos *C. colocynthis* de Nigeria. Se ha encontrado un nivel muy alto de resistencia en algunas razas de *C. lanatus* de Zimbabwe. Recientemente, líneas nuevas de "squash", melón y pepino se les ha introducido el gen de la cubierta de proteína de ZYMV (Zitter *et al.*, 1998).

2.4.1.4 “Pepper mottle virus” (PeMoV)

Virus del moteado del chile

Grupo: Potyvirus

Tipo de ácido nucleico: ARN de cadena simple

Síntomas: En la hoja causa severos moteados, 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 *Lycopersicum*.

Transmisión: En forma no persistente por varias especies de áfidos, incluyendo *Aphis gossypii*, *A. craccivora*, *Myzus persicae*. 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).

2.4.1.5 “Tobacco etch virus” (TEV)

Virus del grabado del tabaco

Grupo: Potyvirus

Tipo de ácido nucleico: ARN de cadena simple.

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 1-2 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 de áfidos en forma no persistente especialmente *Myzus persicae*. 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).

2.4.1.6 “Potato virus Y” (PVY)

Virus “Y” de la papa

Grupo: Potyvirus

Tipo de ácido nucleico: ARN de cadena simple

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: Por áfidos en forma no persistente, principalmente: *Myzus persicae*, *Aphis gossypii*, *Macrosiphum euphorbiae* y *A. nasturtii*; 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).

2.4.2. Geminivirus

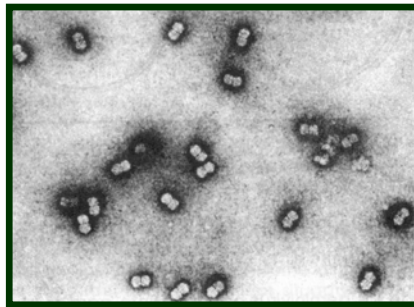


Figura 2. Partículas de un geminivirus.
Fuente: Ramírez y Bustamante (1996).

2.4.2.1. "Tomato yellow leaf curl virus" (TYLCV)

Virus de las hojas amarillas en cuchara del tomate

Grupo: Geminivirus

Tipo de ácido nucleico: ADN de cadena simple.

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).

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).

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*, *Lycopersicum esculentum*, *Malva parviflora* y *Cynanchum acutum* (Brunt *et al.*, 1996).

Transmisión: Por el insecto *Bemisia argentifolii* en forma persistente, (Perring & Bellows) (Polston *et al.*, 1994). Recientes estudios demuestran que puede ser transmitido a los huevecillos de mosca blanca por lo menos dos generaciones (Czosnek y Laterrot, 1997; citado por Guerra, 2000). Se transmite por inoculación mecánica y por injerto. No se transmite por contacto entre plantas (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, 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).
- **Resistencia genética:** Existen variedades de tomate con tolerancia a TYLCV adaptadas al Mediterráneo (Anderson, 1998).

2.4.2.2 "Chino del tomate" (CdTV)

Grupo: Geminivirus

Tipo de ácido nucleico: ADN de cadena simple

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*, *Capsicum spp.*, *Datura stramonium*, *Malva parviflora*, *Nicotiana sp.*, *Phaseolus vulgaris* (Brunt *et al.*, 1996).

Transmisión: Por *Bemisia tabaci* (Aleyrodidae) en forma persistente. El virus no se multiplica en el vector ni se transmite a la progenie del vector; se transmite por injerto. No se transmite por inoculación 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, fepopatrín, 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).

2.4.2.3 "Tomato mosaic Havana virus"

Virus del tomate de la Havana

Grupo: Geminivirus

Tipo de ácido nucleico: ADN de cadena simple.

Síntomas: Enrollamiento y amarillamiento de las hojas en tomate (Brown y Wyatt, 1997¹).

Distribución geográfica: Cuba. Recientemente reportado en Honduras (Maxwell, 2001).

Rango de hospederos: *Lycopersicum esculentum* (Brown y Wyatt, 1997¹).

Transmisión: Transmitido por un insecto vector, mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en forma persistente (Martínez *et al.*, 1999).

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).

2.4.2.4 "Pepper Texas virus"

Virus del chile de Texas

Grupo: Geminivirus

Tipo de ácido nucleico: ADN de cadena simple.

Síntomas: enrollamiento, deformación de la hoja, aclaramiento 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: *Capsicum annum* (chile), *Datura stramonium*, *Lycopersicum esculentum* (tomate), *Nicotiana benthamiana*, *Nicotiana clevelandii*, *Nicotiana rustica* y *Nicotiana tabacum* (Brunt *et al.*, 1996).

Transmisión: Transmitido por un vector, mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en forma persistente; **se transmite por inoculación mecánica**, por injerto, 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).

2.4.3 Cucumovirus

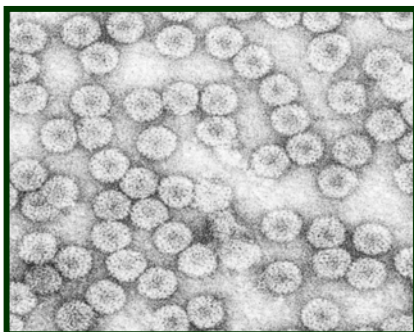


Figura 3. Partículas de un cucumovirus
Fuente: Green y Kim, 1991.

2.4.3.1 “Cucumber mosaic virus” (CMV)

Virus del mosaico del pepino

Grupo: Cucumovirus.

Tipo de ácido nucleico: ARN de cadena simple.

Síntomas: La sintomatología es extremadamente variable. Los síntomas se manifiestan 3-4 semanas después de la infección (Contreras, 2001). 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 (Contreras, 2001). 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* en forma no persistente. **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 morir⁵.
- **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 (Rueda, 2000). 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 tutorio, para evitar transmisión entre plantas (Contreras, 2001).

- **Resistencia genética:** Existen cultivares resistentes a CMV en pepino, en Estados Unidos, cuya resistencia se deriva de cultivares chinos. En melón la resistencia se deriva de melones japoneses, Koreanos y chinos. La sandía usualmente es resistente a CMV pero ocasionalmente se ve afectada. La cubierta de proteína del CMV se ha introducido en pepino, melón y calabaza, brindándoles un buen nivel de resistencia a CMV (Zitter *et al.*, 1998).

2.4.4 Tospovirus

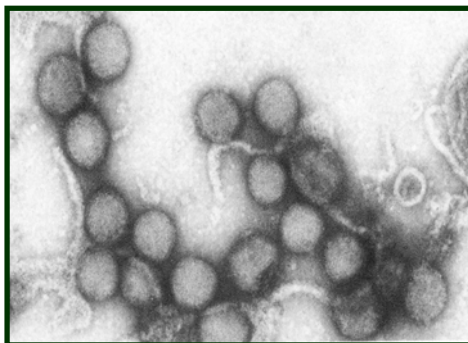


Figura 4. Partículas de un Tospovirus. Fuente: Green y Kim, 1991.

2.4.4.1. “Tomato spotted wilt virus” (TSWV)

Virus de la marchitez manchada del tomate

Grupo: Tospovirus.

Tipo de ácido nucleico: ARN de cadena simple

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, Hawaii, 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 *Lycopersicon esculentum*, *Capsicum annuum*, *Bidens pilosa*, *Datura stramonium*, *Malva parviflora*, *Nicandra physalodes*, *Phaseolus vulgaris*, entre otros (Brunt *et al.*, 1996).

Transmisión: Se transmite por *Thrips tabaci*, *T. setosus*, *T. parvi*, *Frankiniella schultzei*, *F. occidentalis*, *F. fusca* y *Scirtothrips dorsalis*, en forma persistente. 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).

3. MATERIALES Y METODOS

Entre marzo y junio de 2001 correspondiente a la época seca se recolectaron muestras de tejido foliar con síntomas virales de los cultivos de chile, tomate, sandía y varias malezas asociadas a las plantaciones o cercanas a las mismas en las principales zonas de producción de estos cultivos en Honduras. Las muestras se analizaron para varios grupos de virus. Para diagnosticar geminivirus se utilizó la técnica de PCR y electroforesis; para el diagnóstico de potyvirus, virus del mosaico del pepino ("Cucumber mosaic virus") (CMV) y el virus de la marchitez manchada del tomate ("Tomato spotted wilt virus") (TSWV) se utilizó la técnica de ELISA.

3.1 DIAGNOSTICO PRELIMINAR

Entre febrero de 2001 correspondiente a la época seca, se realizó un muestreo preliminar con el objetivo de tener una idea de los virus presentes en Honduras, para decidir la compra de "kits" comerciales para la prueba ELISA, específicos para cada virus, para utilizarlos con las muestras a recolectarse en el estudio de marzo a junio de 2001.

Para esto, se recolectaron 8 muestras de tomate de distintas variedades de la finca experimental de FHIA (Fundación Hondureña de Investigación Agrícola) en Comayagua, 19 muestras de chile, 3 recolectadas en la finca de FHIA, 1 fruto proveniente de Nicaragua, 7 en "Chesnut Hill Farms", 9 muestras recolectadas en "Chestnut Hill Farms" y Zamorano entre enero y abril de 2000 como parte del estudio de J.L. Guamán, 1 muestra de melón recolectada en FHIA, Comayagua; 10 muestras de sandía recolectadas en Choluteca, por personal de FHIA y 1 muestra de melón recolectada en la finca de FHIA en Comayagua. Las muestras se enviaron al laboratorio comercial AGDIA (USA) solicitando el diagnóstico para los siguientes virus (cuadro 7)

Cuadro 7. Virus específicos seleccionados para diagnóstico en AGDIA a muestras de chile, tomate, sandía y melón. USA. Febrero (2001).

CHILE	TOMATE	SANDIA Y MELON
"Cucumber mosaic virus"	"Potato Leaf Roll virus"	"Cucumber Mosaic Virus"
"Pepper Mild Mottle Virus"	"Potato virus Y"	"Papaya Ringspot Virus"
"Potato Virus Y"	"Potyvirus group"	"Potato Virus Y"
"Potyvirus group"	"Tobacco Etch virus"	"Potyvirus group"

“Tobacco Etch Virus”	“Tobacco Mosaic Virus”	“Tobacco Etch Virus”
“Tobacco Mosaic Virus”	“Tobacco Rattle Virus”	“Tobacco Mosaic Virus”
“Tobacco Rattle Virus”	“Tobacco Ringspot Virus”	“Tobacco Ringspot Virus”
“Tobacco Ringspot Virus”	“Tomato Mosaic Virus”	“Tomato Ringspot Virus”
“Tomato Spotted Wilt Virus”	“Tomato Ringspot Virus”	“Tomato Spotted Wilt Virus”
	“Tomato Spotted Wilt Virus”	“Watermelon Mosaic Virus 2”
		“Zucchini Yellow Mosaic Virus”

3.2 MUESTREO

3.2.1 Cultivos muestreados y su ubicación

Entre marzo y junio del 2001, correspondiente a la estación seca, se recolectaron 204 muestras de plantas con síntomas virales incluyendo los cultivos de tomate, chile, sandía y malezas asociadas a estos cultivos y/o que se encontraban cerca de las plantaciones, en las principales zonas de producción de esos cultivos en Honduras.

En la mayoría de las plantaciones se midió visualmente y en porcentaje datos de incidencia y severidad de las infecciones virales afectando al cultivo, considerando la incidencia como el porcentaje de plantas con síntomas virales en una plantación y, severidad haciendo un promedio por plantación en la escala de severidad alta, moderada o baja.

En el cuadro 8 se encuentra la distribución de las muestras de acuerdo a la cantidad, cultivo y lugar donde fueron recolectadas y en el cuadro 9 se mencionan otros cultivos muestreados ocasionalmente en el estudio.

Cuadro 8. Cantidad de muestras de chile, tomate y sandía recolectadas de acuerdo al cultivo y lugar de muestreo. Honduras. Marzo-junio (2001).

Cultivo	Lugar	# de muestras
Chile	Comayagua	33
	Copán	9
	Choluteca (Azacualpa)	8
	Choluteca (Yusguare)	12
	Valle	8

	Zamorano	14
Subtotal		84
Tomate	Comayagua	2
	Choluteca (San Marcos)	13
	Guinope	9
	Zamorano	7
Subtotal		31
Sandía		
	Choluteca (Azacualpa)	2
	Choluteca	9
	Copán	2
	Olancho	15
	Valle	16
Subtotal		44
Total de muestras		159

Cuadro 9 Otros cultivos recolectados de acuerdo al lugar de muestreo. Honduras. Marzo-junio (2001).

Otros cultivos	Lugar de muestreo	Número de muestras
Berenjena	Comayagua	1
Melón	Choluteca	2
	Valle	2
Okra china	Comayagua	1
Pepino	Zamorano	1
Pepino peludo	Comayagua	1
Total		8

Las muestras de melón se encontraban como malezas en plantaciones de sandía en Valle y alrededor de plantaciones de tomate en Choluteca. Las muestras de berenjena, pepino, okra china y pepino peludo se encontraban en plantaciones propias (cuadro 9).

Las plantaciones visitadas fueron de pequeños productores que tenían en promedio 0.5 ha, a excepción de las fincas de “Chestnut Hill” en Comayagua cuya área muestreada aproximadamente fue de 10 ha de chile jalapeño. Todas las malezas recolectadas presentaban síntomas virales.

3.2.2 Recolección e identificación de las muestras

En cada plantación se identificaron visualmente plantas con sintomatología viral, mostrando uno o varios de los siguientes síntomas: mosaico, moteado, arrugamiento, deformación, achaparramiento, clorosis o amarillamiento entre otros, de las hojas y la planta. La recolección del material vegetal se hizo usando la bolsa como guante para evitar contaminación de savia entre plantas; se recolectó material vegetal joven seleccionando los brotes terminales con síntomas virales en crecimiento activo y que no mostraran daño por otro patógeno no viral. Las muestras se guardaron en una hielera hasta llegar a Zamorano, donde se almacenaron a 4°C. Las muestras con síntomas más representativos se fotografiaron.

A las muestras se les asignó la nomenclatura usada en el laboratorio de diagnóstico de Zamorano. Por ejemplo: la muestra 3CNC-280 significa:

3 = el año de estudio desde que empezó el proyecto
 CN = Comayagua norte (el lugar de recolección)
 C = el cultivo, chile.
 280 = el número correlativo de muestra recolectada en el proyecto.

Las muestras de chile y sandía de Copán, chile y sandía de Choluteca localidad Azacualpa, las muestras de tomate, berenjena, okra china y pepino peludo de Comayagua fueron recolectadas y traídas al laboratorio por la Ing. Lorena Lastres. La identificación de las malezas se hizo con la ayuda de la Ing. L. Lastres. En el Anexo 6 se encuentra la descripción de las muestras de acuerdo al cultivo y lugar.

3.3 PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS EN EL LABORATORIO

3.3.1 Preservación del tejido foliar

Una parte de cada muestra fue cortada en pedazos pequeños desinfectando las herramientas entre muestras con cloro y agua destilada para evitar contaminación. El tejido fue envuelto en papel toalla, sellado con cinta adhesiva, numerado y almacenado a 4 °C en bolsas plásticas conteniendo sílica gel, renovando la sílica de acuerdo a la necesidad. Esto se realizó con el fin de secar el tejido y evitar necrosis de las muestras, como un método de preservación en seco, para su posterior utilización en las pruebas ELISA. Cada muestra fue dividida, la otra parte de cada muestra se utilizó como tejido foliar fresco para el diagnóstico de geminivirus mediante la extracción y purificación de ADN.

3.3.2 Diagnóstico de virus de ADN : geminivirus

3.3.2.1 Método de extracción y purificación de ADN

Se extrajo el ADN de todas las muestras, para determinar el porcentaje de infección causada por geminivirus. Para realizar la extracción y purificación de ADN se utilizó el protocolo de ADN total (planta y viral) de Doyle & Doyle. (Anexo 1).

3.3.2.2 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, más conocida por sus siglas en inglés como PCR (“Polymerase Chain Reaction”), 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).

Para la detección y amplificación de geminivirus en este estudio, se utilizaron los "primers" AV 514 y AC 1048 para geminivirus universal. También se utilizaron perlas de PCR (Amersham Pharmacia Biotech, Inc.) conteniendo ~ 1.5 unidades de *Taq* ADN Polimerasa, 10mM Tris-HCl (pH 9.0), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 200 μM de cada dNTP (bases nitrogenadas) y estabilizadores, incluyendo ASB (Albúmina de suero bovino). Cada perla se reconstituyó en 24 μl de agua destilada estéril y 0.5 μl de cada primer para obtener un volumen final de 25 μl. Cada perla reconstituida se dividió en dos partes, transfiriendo 12.5 μl a otro tubo. A cada tubo se agregó 1.0 μl de ADN de una muestra respectiva, esto con el fin de utilizar una perla para dos pruebas.

La amplificación de ADN fue realizada en un termociclador (Perkin Elmer 480) durante 30 ciclos, donde cada ciclo consta de tres fases. Inicialmente se somete a un ciclo de desnaturalización o separación preliminar conocido como “hot start” a 94 °C durante 3 minutos. Se incluye un diagrama mostrando las fases de la reacción (Anexo 2).

1. Fase de desnaturalización: 94 °C durante 1 minuto. A esa 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 1 minuto. En esta etapa la temperatura se reduce para permitir el alineamiento de los “primers” en la región común de las cadenas de ADN molde.

3. Fase de extensión: 72 °C durante 1 minuto. En esta etapa la enzima *Taq* polimerasa realiza la extensión de los “primers” haciendo una copia completa del ADN viral.

Al final existe un ciclo de extensión prolongada a 72 °C durante 5 minutos.

Al final del primer ciclo se obtiene el doble del ADN viral, al realizarse durante 30 ciclos permite aumentar de manera exponencial la cantidad de ADN viral, acumulándose alrededor de 10⁶ a 10⁸ moléculas de ADN, las cuales pueden ser visualizadas en una gel de agarosa (Moctezuma y Kahl, 2000).

Además de las muestras se amplificó un control positivo y uno negativo de geminivirus de tomate de Zamorano con la nomenclatura Inv F2 (Invernadero F2) y HP5 respectivamente.

3.3.2.3. 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 o poliacrilamida) 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 forma de la partícula (Moctezuma y Kahl, 2000).

Se utilizaron geles de agarosa al 0.75%, éstas fueron colocadas en un tanque de electroforesis (Hoefler HE 33), cargadas con 6 ul de muestra por pozo, colocando además de las muestras un marcador molecular (ADN de diferentes tamaños específicos), un control positivo y uno negativo (amplificados previamente) para asegurar resultados confiables. Las geles se corrieron a 80 voltios utilizando una fuente de poder (Bio-Rad 1000/500) aproximadamente por 60 minutos.

Para poder visualizar las bandas de ADN en las geles, éstas fueron teñidas con una solución de 1mg/ml de bromuro de etidio durante 15 minutos. El bromuro de etidio es un colorante cancerígeno que tiene la capacidad de intercalarse entre los pares de bases de la doble cadena de ADN y fluorecer bajo luz ultravioleta (Moctezuma y Kahl, 2000). Luego las geles fueron desteñidas en agua durante 15 minutos, observadas en un transiluminador de rayos ultravioleta (UVP) y fotografiadas con una cámara Polaroid (DS34).

3.3.3 Diagnóstico de virus de ARN

3.3.3.1 Pruebas ELISA

La prueba ELISA permite detectar un virus en una planta por la identificación de la proteína viral, se realiza en un soporte sólido (placas microtituladoras de poliestireno) y se basa en el reconocimiento del antígeno (virus) por un anticuerpo específico y la unión de este complejo con una enzima (fosfatasa alcalina), con la que se tiene un conjugado que retiene simultáneamente la actividad inmunológica y enzimática de los componentes. Si los anticuerpos específicos se unen con sus respectivos antígenos se produce una reacción la cual puede ser visible observándose la presencia de un color amarillo (Castaño-Zapata, 1994) (Anexo 4).

Se compraron “Kits” comerciales para grupo Potyvirus, “cucumber mosaic virus” y “tomato spotted wilt virus”. Las 204 muestras (tomate, chile, sandía y malezas) recolectadas entre marzo y junio del 2001, fueron probadas para grupo potyvirus y el “cucumber mosaic virus” (CMV) (virus del mosaico del pepino), usando la técnica de ELISA. Se seleccionaron 92 muestras entre chile y tomate las que se probaron para el “Tomato spotted wilt virus” (TSWV) (virus de la marchitez manchada del tomate). Para

la prueba de ELISA se siguió el protocolo proporcionado en cada “Kit” comercial de AGDIA (Anexo 3). Los resultados fueron evaluados visualmente y utilizando un lector Bio-Tek Instruments EL311 de platos de microtitulación.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 RESULTADOS DEL DIAGNOSTICO PRELIMINAR

4.1.1 Resultados del diagnóstico preliminar en tomate

Tres muestras de tomate (33%) se diagnosticaron positivas a geminivirus. Las 9 muestras de tomate se diagnosticaron negativas a todos los virus probados mediante la prueba de ELISA.

4.1.2 Resultados del diagnóstico preliminar en chile

De las 19 muestras de chile, nueve (47%) se diagnosticaron positivas a geminivirus. Solamente dos muestras foliares de chile recolectadas en la finca de "Chestnut Hill" y un fruto traído de Nicaragua se diagnosticaron positivas a grupo potyvirus y al "Pepper mottle virus"(PepMoV) (Virus del moteado del chile) y negativas a los demás virus probados, las demás muestras de chile se diagnosticaron negativas a todos los virus probados.

4.1.3 Resultados del diagnóstico preliminar en sandía y melón

De las 10 muestras de sandía, 1 se diagnosticó positiva a geminivirus y 6 muestras de sandía se diagnosticaron positivas para el grupo Potyvirus y negativas para los demás virus probados. Todas las demás muestras se diagnosticaron negativas a todos los virus probados mediante la prueba de ELISA.

4.2 CHILE

Las observaciones sobre la incidencia y severidad de infecciones virales en cada plantación se muestran en el cuadro 10. Todas las muestras de chile se probaron para geminivirus utilizando las técnicas de PCR y electroforesis. Para el grupo potyvirus y virus del mosaico del pepino se utilizó la prueba ELISA. Se seleccionaron 61 muestras de chile y las 31 de tomate, las que se probaron para el virus de la marchitez manchada del tomate ("tomato spotted wilt virus" (TSWV). Los resultados se muestran en el cuadro 11.

Cuadro 10. Incidencia y severidad de infecciones virales observada por síntomas en las plantaciones de chile por lugar de muestreo. Honduras. Marzo-junio (2001).

Lugar	Incidencia (%)	Severidad
Comayagua	80	Moderado
Copán	-	-
Choluteca (Azacualpa)	-	-
Choluteca (Yusguare)	5	Leve

Valle	60	Moderado
Zamorano	90	Moderado

- : No se tomaron datos

Cuadro 11. Porcentaje de muestras de chile positivas a geminivirus, potyvirus, virus del mosaico del pepino (CMV) y virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV) por lugar de muestreo. Honduras. Marzo-junio (2001).

Lugar	# de muestras	Geminivirus (%)	Potyvirus (%)	CMV (%)	TSWV (%)	GV+CMV (%)
Comayagua	33	55	0	0	0	0
Copán	9	56	0	78	0	44
Choluteca (Azacualpa)	8	13	0	0	0	0
Choluteca (Yusguare)	12	58	0	0	0	0
Valle	8	88	0	0	0	0
Zamorano	14	50	0	0	0	0
Total	84	54	0	8	0	5

CMV: Virus del mosaico del pepino (“Cucumber mosaic virus”)

TSWV: Virus de la marchitez manchada del tomate (“Tomato spotted wilt virus”)

GV+CMV: Geminivirus y Virus del mosaico del pepino (“Cucumber mosaic virus”).

4.2.1 Resultados del análisis de geminivirus

Un 54% de las muestras de chile recolectadas entre marzo y junio del 2001, correspondiente a la época seca en Honduras y analizadas, resultaron positivas a geminivirus, siendo Valle el departamento donde se encontró un porcentaje de infección más alto (88%), Zamorano con un 50% de infección por geminivirus y Choluteca, localidad de Azacualpa la zona de menor infección (13%) (Cuadro 11). A su vez las plantaciones de Valle y Zamorano presentaron los valores más altos de incidencia y severidad de infecciones virales 60% moderada y 90% moderada respectivamente (Cuadro 10).

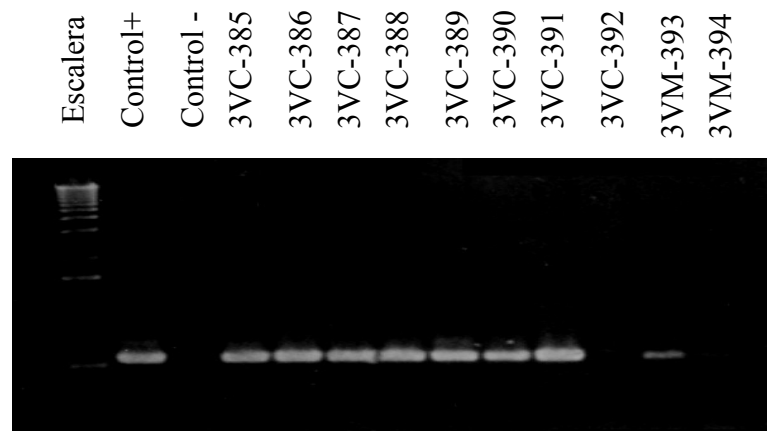


Figura 5. Fotografía de una gel de electroforesis mostrando los resultados de las muestras de chile de Valle.

Estos valores muestran que el grupo geminivirus es muy importante en el cultivo de chile y los resultados están cercamente relacionados con los obtenidos por Guamán (2000) en los que encontró un 88% de muestras de chile positivas a geminivirus muestreando en Comayagua y Zamorano. La diferencia entre un 88% en el año 2000 y un 54% en el año 2001 puede atribuirse a que en el segundo estudio se aumentó los sitios de muestreo lo cual contribuye a disminuir el error experimental, considerando que en el estudio de J.L. Guamán se recolectaron muestras de chile solamente de la finca comercial “Chestnut Hill”, donde se siembra chile a lo largo del año como monocultivo. También podría atribuirse a la variabilidad existente de los sistemas agrícolas, prácticas culturales de cada plantación, época de muestreo, entre otros.

4.2.2 Resultados del análisis de virus de ARN

Ninguna de las muestras de chile analizadas resultó positiva al grupo potyvirus (cuadro 11), considerando que los controles positivos y negativos en la prueba ELISA funcionaron correctamente. Esto demuestra que la prueba se hizo correctamente; estos resultados son inesperados debido a que la literatura menciona al grupo potyvirus como uno de los principales afectando al cultivo de chile. Sin embargo, hay que considerar que en Honduras, la mayoría de los diagnósticos de infecciones virales se han hecho basado en sintomatología, con excepción del estudio de Alí Valdivia en 1991.⁷

Estos resultados también coinciden con los encontrados por Guamán (2000) donde ninguna muestra de chile resultó positiva a potyvirus. Por lo tanto se puede deducir que actualmente el grupo potyvirus en Honduras no es de mucha importancia en el cultivo de chile, a menos que existan otros factores que influyan en la infección.

En cuanto al virus del mosaico del pepino (CMV), un 8% de las muestras de chile resultaron positivas a este virus y todas las muestras positivas se recolectaron en Copán, resultando positivas un 78% de éstas (Cuadro 11). Por lo tanto el CMV es importante en el cultivo de chile en Honduras pero al encontrarse este virus localizado en una zona, posiblemente su presencia se debe más que todo a problemas de manejo en las plantaciones, ya que este virus se transmite fácilmente en forma mecánica y por áfidos.

Todas las muestras de chile probadas resultaron negativas al virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV) (cuadro 11). En chile, un 5% de las muestras tuvieron una infección mixta de geminivirus y virus del mosaico del pepino. Finalmente, un 62% de las muestras diagnosticadas resultaron positivas a geminivirus, virus del mosaico del

⁷ Doyle, 2001. Diagnóstico de infecciones virales en Honduras. Zamorano, Honduras. Comunicación personal.

pepino o una combinación de los dos (cuadro 11). Sin embargo en Chile, queda un 38% de muestras que fueron negativas a los virus probados, pudiendo atribuirse a otros virus, o a factores abióticos que están causando síntomas similares a los ocasionados por infecciones virales.

4.3 TOMATE

Las observaciones sobre la incidencia y severidad de infecciones virales en cada plantación se muestran en el cuadro 12. Todas las muestras de tomate se probaron para geminivirus utilizando la técnica de PCR y electroforesis; para potyvirus, virus del mosaico del pepino y virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV) utilizando la prueba de ELISA. Los resultados se muestran en el cuadro 13.

Cuadro 12. Incidencia y severidad de infecciones virales observada por síntomas en las plantaciones de tomate por lugar de muestreo. Honduras. Marzo-junio (2001).

Lugar	Incidencia (%)	Severidad
Comayagua	-	-
Choluteca	30	Leve
Morazán (Guinope)	75	Moderada
Zamorano	90	Moderada

-: No se tomaron datos

Cuadro 13. Porcentaje de muestras de tomate positivas a geminivirus, potyvirus, virus del mosaico del pepino (CMV) y virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV) por lugar de muestreo. Honduras. Marzo-junio (2001).

Lugar	# de muestras	Geminivirus (%)	Potyvirus (%)	CMV (%)	TSWV (%)
Comayagua	2	0	0	0	0
Choluteca	13	8	0	0	0
Morazán	9	0	0	0	0
Zamorano	7	86	0	0	0
Total	31	23	0	0	0

CMV: Virus del mosaico del pepino (“Cucumber mosaic virus”)

TSWV: Virus de la marchitez manchada del tomate (“Tomato spotted wilt virus”).

4.3.1 Resultados del análisis de geminivirus

Un 23% de las muestras de tomate resultaron positivas a geminivirus. En Zamorano se encontró el mayor porcentaje de infección por geminivirus (86%) (cuadro 13), lo cual se relaciona con los altos porcentajes de incidencia (90) y severidad moderada observados en invernadero (cuadro 12), esto puede atribuirse a que en Zamorano se siembra tomate y chile a lo largo de todo el año y en forma escalonada en lotes contiguos lo que aumenta la presión y reproducción de mosca blanca y mantiene altas cantidades de inóculo de geminivirus. Por tanto puede decirse que en Zamorano la principal infección viral es causada por geminivirus a pesar de que el cultivo muestreado se encontraba bajo invernadero.

En la plantación de tomate en Guinope se observó una alta incidencia (75%) de virus y una severidad moderada (cuadro 12) y todas las muestras en este lugar resultaron negativas a todos los virus probados por lo que queda la incertidumbre sobre que otros virus u otros factores abióticos afectaban a este cultivo.

4.3.2 Resultados del análisis de virus de ARN

En tomate ninguna de las muestras diagnosticadas resultaron positivas a grupo potyvirus, virus del mosaico del pepino y virus de la marchitez manchada del tomate. Por tanto tampoco existieron infecciones mixtas (cuadro 13). Un 77% de las muestras se diagnosticaron negativas a los virus probados, pudiendo estas muestras estar infectadas con otros virus o ser afectadas por otros factores que causaron síntomas similares a infecciones virales.

4.4 SANDIA

Las observaciones realizadas en cada plantación sobre la incidencia y severidad de infecciones virales se muestran en el cuadro 14. Todas las muestras de sandía y las malezas se probaron para geminivirus usando la técnica de PCR y electroforesis; para potyvirus y virus del mosaico del pepino utilizando la prueba de ELISA. Los resultados se muestran en el cuadro 15.

Cuadro 14. Incidencia y severidad observada por síntomas en las plantaciones de sandía por lugar de muestreo. Honduras. Marzo-junio (2001).

Lugar	Incidencia (%)	Severidad
Choluteca (Azacualpa)	-	-
Choluteca	5	Leve
Copán	-	-
Olancho	20	Moderada
Valle	100	Alta

-: No se tomaron datos

Cuadro 15. Porcentaje de muestras de sandía positivas a geminivirus, potyvirus, virus del mosaico del pepino (CMV) e infecciones mixtas por lugar de muestreo. Honduras. Marzo-junio (2001).

Lugar	# de muestras	Geminivirus (%)	Potyvirus (%)	CMV (%)	GV+POTY (%)
Choluteca (Azacualpa)	2	0	100	0	0
Choluteca	9	0	0	0	0
Copán	2	100	50	0	50
Olancho	15	27	13	0	0
Valle	16	63	81	0	56
Total	44	36	41	0	23

CMV: "Cucumber mosaic virus"

GV+POTY: Geminivirus y Potyvirus.

La plantación de sandía en Valle tuvo los valores más altos de incidencia y severidad de infecciones virales, 100%, alta respectivamente. En esta plantación se observó también altas poblaciones de mosca blanca, áfidos y malezas asociadas al cultivo y en los alrededores de la plantación, lo cual podría explicar esos altos valores.

4.4.1 Resultados del análisis de geminivirus

Un 36% de las muestras se diagnosticaron positivas para geminivirus (cuadro 15), siendo Copán el departamento donde se encontró una infección del 100%, sin embargo hay que considerar que este resultado es solamente de dos muestras por lo que no es muy representativo. En Valle se encontró un 63% de infecciones por geminivirus, a diferencia de Choluteca donde no se encontraron geminivirus. Estos resultados sugieren que en los últimos años el porcentaje de infecciones virales en sandía causadas por geminivirus se ha incrementado, ya que según Caballero y Rueda (1993) las poblaciones de mosca blanca en los cultivos de melón y sandía fueron bajas en la zona sur de Honduras hasta inicios de los años 90, aunque existía la incertidumbre sobre el porcentaje de infecciones

virales transmitidas por mosca blanca, pero el principal problema en cucurbitáceas fueron las infecciones virales transmitidas por áfidos, especialmente dentro del grupo potyvirus.⁸

Estos resultados son lógicos si se considera que en las plantaciones aledañas a los cultivos de sandía en Valle, había plantaciones de chile y sandía infestadas con altas poblaciones de mosca blanca, también concuerda con el alto porcentaje de infección por geminivirus en esta zona.

4.4.2 Resultados del análisis de virus de ARN

No se encontraron muestras positivas al virus del mosaico del pepino (CMV) en sandía; un 41% de las muestras se diagnosticaron positivas a potyvirus, en localidades como Azacualpa (Choluteca) que tuvieron un 100% de infección por potyvirus (cuadro 15), sin embargo hay que considerar que estos resultados son de dos muestras y pueden no ser representativos. En Valle se encontró un 81% de potyvirus (cuadro 15). Por tanto se considera que el grupo potyvirus es de mayor importancia en sandía y en general en cucurbitáceas. Las muestras no se probaron para virus específicos dentro del grupo potyvirus. Sin embargo, Valdivia (1991) encontró en estudios anteriores en melón, los virus del mosaico del pepino (CMV), mosaico amarillo del zucchini (ZYMV), virus del mosaico de la sandía 1 (WMV1) y virus del mosaico de la sandía 2 (WMV2). Por tanto, podría ser que varias de las muestras positivas a potyvirus pertenecen a estos virus específicos.

Un 23 % de las muestras tuvieron una infección mixta siendo portadoras de geminivirus y potyvirus, siendo Valle el departamento con mayor infección por potyvirus, geminivirus y una combinación de los dos (56 %). Un 50 % de las muestras de Copán presentaron una infección mixta de geminivirus y potyvirus (cuadro 15). En sandía un 77 % de las muestras recolectadas se diagnosticaron positivas a geminivirus, potyvirus o una combinación de los dos, quedando un 22.8% de las muestras con infecciones virales de etiología desconocida.

4.5 OTROS CULTIVOS

Estas muestras se probaron para geminivirus utilizando las técnicas de PCR y electroforesis. Para potyvirus y virus del mosaico del pepino (CMV) se utilizó la prueba ELISA. Los resultados del diagnóstico se muestran en el cuadro 16.

Cuadro 16. Porcentaje de muestras de berenjena, melón, okra china, pepino y pepino peludo positivas a geminivirus, potyvirus y virus del mosaico del pepino por lugar de muestreo. Honduras. Marzo-junio (2001).

⁸ Lastres, L. 2001. Virus en cucurbitáceas en Choluteca y Valle, Honduras. (Comunicación personal).

Cultivo	Lugar	# de muestras	Geminivirus (%)	Potyvirus (%)	CMV (%)
Berenjena	Comayagua	1	0	0	0
Melón	Choloteca	2	0	50	0
	Valle	2	50	50	0
Okra china	Comayagua	1	0	100	0
Pepino	Zamorano	1	0	0	0
Pepino peludo	Comayagua	1	0	0	0
Total		8	13	38	0

CMV: "Cucumber mosaic virus"

Las muestras de berenjena, pepino y pepino peludo se diagnosticaron negativas a geminivirus, potyvirus y virus del mosaico del pepino a pesar de que presentaban síntomas virales. La muestra de okra china fue positiva solamente a potyvirus. Una muestra de melón de Choloteca se diagnosticó positiva a potyvirus y 50 % de las muestras de melón de Valle fueron positivas para geminivirus y el restante 50 % a potyvirus (cuadro 16). Los resultados en melón sugieren que actualmente las infecciones virales producidas por geminivirus (50%) y potyvirus (50%) son las principales en este cultivo. Sin embargo, cabe recalcar que una o dos muestras no son representativas, por tanto sería necesario un diagnóstico con un mayor número de muestras y sitios de muestreo para poder confirmar esta aseveración.

4.6 MALEZAS

La descripción de las malezas recolectadas y los resultados de los análisis se muestran a continuación.

Cuadro 17. Malezas recolectadas de acuerdo al cultivo y lugar donde se encontraron. Honduras. Marzo-junio (2001).

Cultivo/Lugar	Familia	Nombre científico	N.C.	#	Resultado
Chile					
Choloteca	Cucurbitaceae	<i>Luffa cylindrica</i>	Paste	1	-
Choloteca	Euphorbiaceae	<i>Acalypha sp.</i>	Gusanillo	1	-
Copán	Asteraceae	<i>Melampodium divaricatum</i>	Flor amarilla	1	-
Choloteca	Asteraceae	<i>Melanthera nivea</i>	Botón blanco	1	-
Choloteca	Portulacaceae	<i>Portulaca oleracea</i>	Verdolaga	1	-
Choloteca	Rubiaceae	----	----	1	-
Choloteca	Asteraceae	<i>Baltimora recta</i>	Flor amarilla	1	-

Choluteca	Nyctaginaceae	<i>Boerhavia erecta</i>	Pata de paloma	1	-
Valle	Nyctaginaceae	<i>Boerhavia erecta</i>	Pata de paloma	1	Geminivirus
Choluteca	Capparidaceae	<i>Cleome viscosa</i>	Tabaquillo	2	Geminivirus
Choluteca	Cucurbitaceae	----	----	1	-
Choluteca	Euphorbiaceae	<i>Euphorbia heterophylla</i>	Golondrina	1	-
Choluteca	Boraginaceae	<i>Heliotropum indicum</i>	Cola de alacrán	1	-
Choluteca	Solanaceae	----	----	1	-
Choluteca	----	<i>No identificada</i>	----	1	-
Choluteca	Zygophyllaceae	<i>Kallstroemia maxima</i>	Verdolaga de playa	1	-
Tomate					-
Choluteca	Asteraceae	<i>Bidens pilosa</i>	Mozotillo	1	-
Choluteca	Amaranthaceae	<i>Amaranthus sp.</i>	Bledo	1	-
Choluteca	Malvaceae	----	----	1	-
Choluteca	Euphorbiaceae	<i>Euphorbia sp.</i>	Golondrina	1	-
Choluteca	Asteraceae	<i>Sclerocarpus phyllocephalus</i>	Flor amarilla	1	-
Choluteca	Solanaceae	----	----	1	-
Choluteca	Solanaceae	<i>Datura stramonium</i>	Vuélvete loca	2	-
Comayagua	Malvaceae	<i>Malvastrum coromandelianum</i>	Escobilla	1	-
Comayagua	Cucurbitaceae	<i>Momordica charantia</i>	Calaica	1	-
Zamorano	Solanaceae	<i>Nicandra physalodes</i>	Tomatillo	1	Geminivirus
Choluteca	Solanaceae	----	----	1	-
Comayagua	Solanaceae	<i>Solanum torvum</i>	Huevo de gato	1	-
Sandía					-
Valle	Capparidaceae	<i>Cleome viscosa</i>	Tabaquillo	1	Geminivirus
Olancho	Cucurbitaceae	<i>Luffa cilindrica</i>	Paste	2	GV/POTY
Olancho	Cucurbitaceae	<i>Cucurbita moschata</i>	Calabaza	2	Geminivirus
Valle	Solanaceae	----	----	1	Geminivirus
Valle	Cucurbitaceae	<i>Cucurbita pepo</i>	Ayote	1	GV+POTY
Total				37	

----: No se tienen datos. N.C.: Nombre común. #: Número de muestras recolectadas. -: Negativa a los virus probados. GV/POTY: una muestra con geminivirus, una muestra con potyvirus. GV+POTY: la misma muestra con geminivirus y potyvirus.

De las malezas asociadas al cultivo de **Chile**, la maleza *Boerhavia erecta* recolectada en Valle y *Cleome viscosa* recolectada en Choluteca, localidad Azacualpa resultaron positivas a geminivirus. Todas las demás malezas probadas resultaron negativas a geminivirus. Todas las especies de malezas muestreadas resultaron negativas a grupo potyvirus y virus del mosaico del pepino. A pesar de que Valdivia (1991) encontró las malezas *Boerhavia erecta* y *Cleome viscosa* como hospederas del virus del mosaico del pepino y de algunos virus pertenecientes al grupo potyvirus, en melón en Choluteca.

En **Tomate** solamente la maleza *Nicandra physalodes*, una de las malezas más comunes en Zamorano se diagnosticó positiva a geminivirus. Todas las demás malezas se diagnosticaron negativas a geminivirus y todas las malezas diagnosticadas resultaron

negativas a grupo potyvirus, virus del mosaico del pepino y virus de la marchitez manchada del tomate.

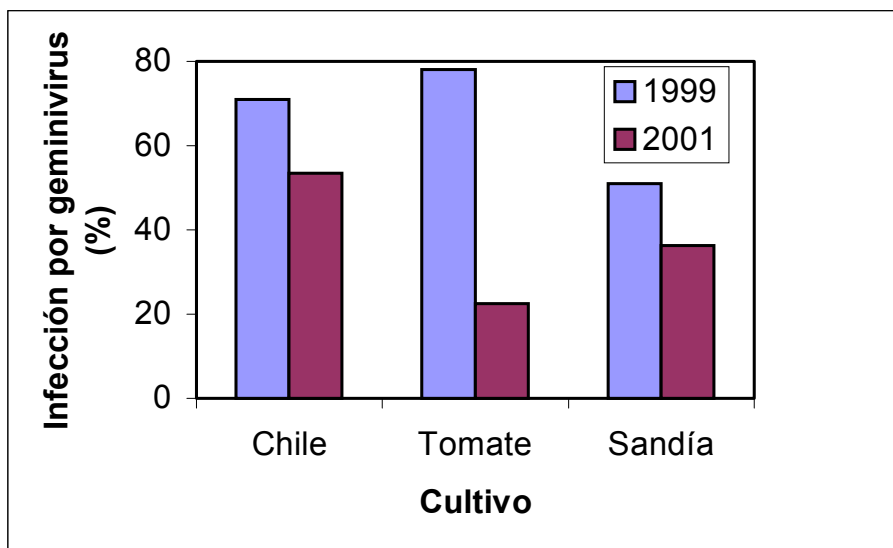
En **Sandía** las malezas: *Cleome viscosa* recolectada en Valle, paste, calabaza recolectadas en Olancho y una maleza de la familia solanácea recolectada en Valle se diagnosticaron positivas a geminivirus. La maleza paste recolectada en Olancho resultó positiva a potyvirus y la maleza *Cucurbita pepo* recolectada en Valle fue positiva a geminivirus y potyvirus.

Posiblemente con malezas puede existir falsos negativos ya que según Moctezuma y Kahl (2000) algunas especies de plantas presentan dificultades para diagnóstico ya que tienen compuestos fenólicos que pueden interferir y dificultar el proceso de extracción de ADN.

4.7 RESULTADOS EN CONJUNTO

4.7.1 Comparación de la infección por geminivirus en chile, tomate y sandía en los años 1999 y 2001 en Honduras

En la gráfica 2, se hace una comparación de los porcentajes de infección de geminivirus encontrados en los cultivos de chile, tomate y sandía en los años 1999 y 2001 en Honduras.



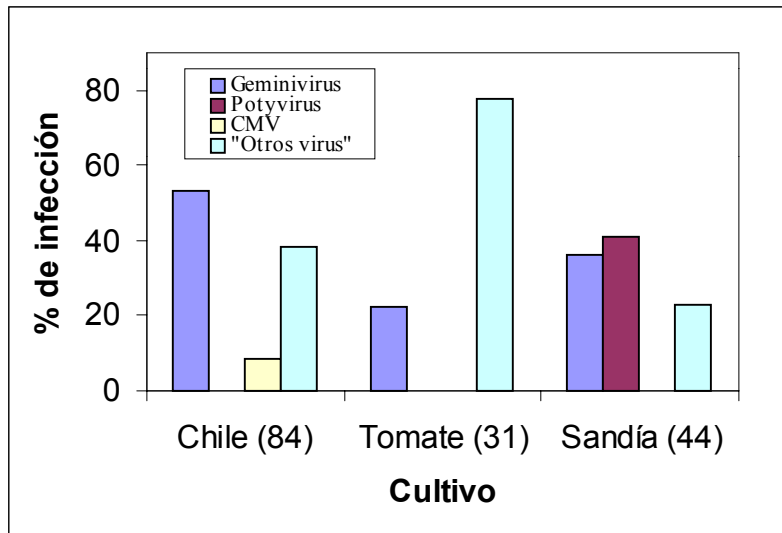
Gráfica 2: Infección por geminivirus en chile, tomate y sandía en Honduras en 1999 y 2001.

En los dos estudios, 1999 y 2001 la época de muestreo correspondió a la estación seca, entre enero y mayo en 1999 y marzo a junio en el 2001. Al comparar los resultados de 1999 y 2001 se observa una similitud en los porcentajes de infección por geminivirus en chile y sandía. Estos valores permiten tener una visión clara de la importancia real de infecciones por geminivirus en estos cultivos, que es alta, pero no es el único grupo de virus que afecta a estos cultivos como se cree erróneamente. Las diferencias encontradas en los dos años, en especial los porcentajes de infección más altos en el año 1999 podrían explicarse ya que en este año solo se muestrearon dos lugares, Comayagua y Zamorano, que históricamente han tenido altas poblaciones de mosca blanca, por lo que las infecciones por geminivirus podrían ser más altas que en otras regiones de Honduras. En el estudio del 2001 se ampliaron los sitios de muestreo lo cual hace más representativos los valores encontrados.

En el caso de tomate, igualmente en 1999 solo se tomaron muestras en Comayagua y Zamorano, dos lugares de altas poblaciones de mosca blanca y probablemente con mayores porcentajes de infección por geminivirus que en otras regiones de Honduras. Sin embargo, los resultados obtenidos en el 2001 pueden estar subestimados debido a que el número de muestras analizadas fue reducida, especialmente en lugares como Comayagua.

4.7.2 Comparación de la infección por geminivirus, potyvirus, virus del mosaico del pepino (CMV) y "otros virus" de etiología desconocida, encontrados en chile, tomate y sandía en Honduras (2001)

En la gráfica 3, se comparan los porcentajes de infección en chile, tomate y sandía de geminivirus, potyvirus, virus del mosaico del pepino y "otros virus" de etiología desconocida en Honduras, obtenidos en el estudio.



CMV: "Cucumber mosaic virus" (Virus del mosaico del pepino)

Gráfica 3. Infección de geminivirus, potyvirus, virus del mosaico del pepino y otros virus (de etiología desconocida) en chile, tomate y sandía en Honduras. Marzo-junio (2001).

Los resultados obtenidos en este estudio (2001) muestran que en el cultivo de chile la infección por geminivirus es la de mayor importancia, no se encontraron infecciones por potyvirus y las infecciones encontradas por el virus del mosaico del pepino (CMV) se consideran de segunda importancia, debido a que se encontró solamente en uno de los sitios muestreados, Copán. En el cultivo de tomate los resultados sugieren que la infección por geminivirus es importante pero no muy alta, estos resultados podrían no ser representativos ya que el número de muestras fue reducido, no se encontraron infecciones por potyvirus ni CMV en tomate. En sandía las infecciones por potyvirus y geminivirus constituyen las dos de mayor importancia en este cultivo, siendo la principal los potyvirus y no se encontraron infecciones por CMV.

Finalmente, queda un 38 % de muestras de chile, 77 % de muestras de tomate y 23 % de muestras de sandía que se diagnosticaron negativas a todos los virus probados, atribuyéndose estos porcentajes a "otros virus" de etiología desconocida, sin embargo queda la incertidumbre sobre cuales son los virus u otros factores abióticos que están causando desórdenes en la planta con síntomas similares a los causados por virus. Es importante notar que a nivel mundial el cultivo de chile es afectado aproximadamente por 49 virus, el tomate por 136 virus y sandía por 27 virus específicos (Brunt *et al.*, 1996), y en este estudio tuvo que seleccionarse 4 grupos de virus para diagnosticar las muestras recolectadas, lo cual es una limitante importante porque quedaron una gran cantidad de virus que no se probaron y que podrían ser la causa de los síntomas en las muestras que se diagnosticaron negativas.



Figura 6: continuación.

**Figuras:**

1, 2, 3 y 6 geminivirus en chile
4 mosaico del pepino (CMV)
en chile.

5 CMV y geminivirus en chile.

7, 8 y 9 geminivirus en tomate.

10 y 13 geminivirus en
calabaza.

11 potyvirus en sandía.

12 y 14 geminivirus en sandía.

5. CONCLUSIONES

En **chile** se encontró un 54 % de infección por geminivirus, 8 % por el virus del mosaico del pepino (CMV), 0% de potyvirus, 0% de virus de la marchitez manchada del tomate y 44 % de infecciones mixtas entre geminivirus y CMV. Los resultados obtenidos indican que las infecciones por geminivirus constituyen la problemática de mayor importancia en este cultivo en todos los lugares muestreados. El virus del mosaico del pepino (CMV) puede considerarse de segunda importancia debido a que solo se encontró en un lugar de muestreo, Copán.

En **tomate** solamente se encontró un 23 % de infección por geminivirus. Los resultados del estudio muestran que en Zamorano las infecciones virales causadas por geminivirus en tomate son las más comunes y de mayor importancia, sin embargo hubieron zonas donde no se encontró geminivirus. Esto es contrario a lo que reporta la literatura donde se considera que los geminivirus son el principal problema en tomate. La diferencia encontrada en este estudio posiblemente se deba al reducido número de muestras y de lugares de muestreo que se tuvo en el caso de tomate.

En **sandía** se encontró un 36 % de infección por geminivirus, 41 % de potyvirus, 0% de CMV y 23 % de infecciones mixtas entre geminivirus y potyvirus. Estos resultados sugieren que el complejo mosca blanca-geminivirus ha ido incrementando el daño ocasionado en sandía desde la década de los 90 donde las poblaciones de mosca blanca en cucurbitáceas eran bajas y los virus más comunes en esta familia pertenecían al grupo potyvirus. Actualmente puede considerarse que en sandía los grupos potyvirus y geminivirus son los de mayor importancia afectando en proporciones similares lo cual complica el manejo.

La incidencia y severidad de infecciones virales observada en el campo fue en general alta, sin embargo según los resultados de los análisis, un 38 % de muestras de chile, 77 % de muestras de tomate y 23 % de muestras de sandía resultaron negativas a todos los virus probados. Es importante considerar que en este estudio se probaron solamente 4 grupos de virus que afectan a estos cultivos, quedando una gran cantidad de virus sin haberse investigado específicamente. Por lo tanto, queda la incertidumbre sobre que otros grupos de virus están presentes y/o patologías de origen abiótico que están causando síntomas similares a los causados por infecciones virales en los cultivos de chile, tomate y sandía.

Las malezas *Boerhavia erecta*, *Cleome viscosa*, *Nicandra physalodes*, *Cucurbita pepo*, paste, calabaza y una maleza de la familia solanacea resultaron positivas a geminivirus. El ADN de las muestras de malezas positivas a geminivirus debe secuenciarse para

establecer la identidad del/los geminivirus. Las malezas *paste* y *Cucurbita pepo* resultaron positivas a potyvirus; por lo tanto, éstas malezas están sirviendo como fuente de inóculo de geminivirus y potyvirus a los cultivos de chile, tomate y sandía, siendo reservorios de mosca blanca y áfidos e incluso podrían estar contribuyendo en la infección de otras malezas fuera de la época de siembra de estos cultivos manteniendo a través del tiempo el inóculo e incrementando la incidencia y severidad de infecciones virales en las siguientes siembras. Aunque las demás especies de malezas resultaron negativas a todos los virus probados, no se descarta completamente la posibilidad de que sean hospederas de virus debido a que la literatura reporta a algunas de ellas como hospederas de virus.

Las malezas diagnosticadas positivas a virus demuestran que algunas especies de malezas que están en los alrededores, bordes y asociadas al cultivo son de importancia ya que pueden ser reservorio de virus y de insectos vectores. Por ello, es de vital importancia el diagnóstico de las malezas que presentan síntomas virales en las zonas de producción, para contribuir al manejo mediante su reconocimiento y destrucción antes del inicio de la época de siembra de estos cultivos que contribuya a reducir la diseminación de infecciones virales en una zona. Sin embargo, para poder determinar si una maleza es hospedera de un virus además del diagnóstico es necesario realizar ensayos de transmisión con vectores y pruebas de secuenciación del virus encontrado.

6. RECOMENDACIONES

Se recomienda continuar con el estudio de identificación de enfermedades virales en tomate, chile, sandía y otros cultivos de importancia económica y social en Honduras, incrementando el número de muestras, los sitios de muestreo y en las dos estaciones (seca y lluviosa) en el año, probando con otros grupos de virus y con virus específicos que pueden estar afectando a estos cultivos, basándose en los resultados del presente estudio para seleccionar los virus a probar en futuros estudios.

En cucurbitáceas, al determinarse que el grupo potyvirus sigue siendo el de mayor importancia, se recomienda probar para virus específicos dentro de este grupo; se sugieren: virus del mosaico de la sandía 1 y 2 y virus del mosaico amarillo del Zucchini.

El diagnóstico de infecciones virales debe complementarse siempre con observaciones en el campo, identificar los insectos vectores presentes, los sitios de donde vienen los problemas por infecciones virales y las plantas que están sirviendo como hospederos. Para esto, se sugiere diseñar un formulario de campo que permita tomar información específica de este tipo al momento del muestreo, ya sea por muestra o por grupo de muestras por sitio de muestreo.

Continuar con la identificación de malezas con síntomas virales y asintomáticas encontradas dentro y en los alrededores de cada plantación con cada cultivo.

Se recomienda optimizar un protocolo de extracción de ADN para malezas que sea más apropiado para éstas, que contribuya a evitar problemas de diagnóstico en malezas por posibles "falsos negativos".

Una vez identificados otros grupos de virus y virus específicos que están afectando a los cultivos de tomate, chile y cucurbitáceas se recomienda realizar un manual fotográfico de identificación de enfermedades virales que permita a los productores, en especial a los que no tienen acceso ni recursos para un servicio de diagnóstico, contar con un manual que le permita usar el diagnóstico visual (aunque no es 100% confiable) para guiarse sobre los grupos de virus que puede tener en su plantación y pueda implementar a tiempo prácticas de manejo.

El diagnóstico de infecciones virales podría complementarse con análisis económicos que permitan determinar ciertos niveles de infección de virus que es capaz de soportar un cultivo determinado sin disminuir considerablemente sus rendimientos.

Realizar estudios de adaptación a la zona y rendimiento de variedades resistentes a geminivirus y a otros virus que se identifiquen ya que constituye una solución de manejo a corto y largo plazo que debe implementarse como parte de un programa MIP.

7. BIBLIOGRAFIA

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. Consultado el 15/09/01. Disponible en: <http://www.agnic.org/pmp/1998/tyl0528.html>

ALVAREZ, P; ALFONSECA, L; ABUD, A; VILLAR, A; ROWLAND, R; MARCANO, E; BORBON, J; GARRIDO, L. 1993. Las Moscas Blancas (Homoptera:Aleyrodidae) en América Central y el Caribe: Las moscas blancas en la República Dominicana. In Memoria del Taller Centroamericano y El Caribe sobre Moscas Blancas (1992, CATIE, C.R.). Ed. por Luko Hilje y Orlando Arboleda. CATIE, Turrialba, C.R. p. 34-37.

BLACK, L.L; GREEN, S.K; HARTMAN, G.L; POULOS, J.M. 1991. Pepper Diseases: A Field Guide. Taipei, Taiwan. s.n. 98p. (Asian Vegetable Research and Development Center Publication no. 91-347).

BROWN, J.K., BIRD, J. 1992. Whitefly-transmitted Geminivirus and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Disease* 76 (3) : 220-225.

BROWN, J.K. 1992. Evaluación crítica sobre los biotipos de mosca blanca en América, de 1989 a 1992. Las moscas blancas (Homóptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. In Memoria del taller Centroamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas (1992, CATIE, C.R.). Ed. por Luko Hilje y Orlando Arboleda. CATIE, Turrialba, C.R. p. 1-9.

BROWN, J.K.; WYATT, S.D. 1997¹. The core región of the CP gene permits identification and predictions about evolutionary history of the geminiviridae. In Congreso anual de APS. División del Caribe. San José, Costa Rica. s.n.t.

BROWN, J.K.; WYATT, S.D. 1997². Gemini detective. Havana Tomato virus-Cuba (HTV-CU). Consultado el 7/10/2001. Disponible en: <http://gemini.biosci.arizona.edu/descriptions/htv-cu/htv.html>

BRUNT, A.A.; CRABTREE, K; DALLWITZ, M.J.; GIBBS, A.J.; WATSON, L. y ZURCHER, E.J. 1996. Plant Viruses Online. Descriptions and lists from the VIDE Database. Consultado el 10/07/2001. Disponible en: <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide/>

CABALLERO, R.; RUEDA, A. 1993. Las moscas blancas en Honduras. Las moscas blancas (Homóptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. In Memoria del taller Centroamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas (1992, CATIE, C.R.). Ed. por Luko Hilje y Orlando Arboleda. CATIE, Turrialba, C.R. p. 50-53.

CASTAÑO-ZAPATA, J. 1994. Principios básicos de Fitopatología. 2 Ed. Zamorano, Honduras. Zamorano Academic Press. 538 p.

CATIE (C.R.). 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 (C.R.). 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).

CONTRERAS, M. 2001. Los fitopatógenos en el manejo de las enfermedades de los cultivos. Apuntes de clase de Fitoprotección. Zamorano, Honduras.

DAVIS, R.M.; FALK, B.W.; SUBBARAO, K. 1996. Peppers: TOMATO SPOTTED WILT VIRUS. Consultado el 16/09/01. Disponible en:
<http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/r604100911.html>

DOYLE, M.M.; BARRIENTOS, E; JACO, A; TRABANINO, R; CRUZ, K. 1999. Annual Report, IPM Biotechnology Group, Bean CowPea CRSP. Zamorano. 39 p.

DOYLE, M.M.; JACO, A.; AGUILAR, E.; GUAMAN, J.L. 2001. Annual Report, IPM Biotechnology Group, IPM-CRSP. Zamorano. 39 p.

ESPINOZA, H. 1991. Método para diagnosticar virus de cucúrbitas en áfidos. In Memoria del Tercer Taller Centroamericano en Fitoprotección de Melón. Ed. por Lorena Lastres, Mario Contreras y Alfredo Rueda. Zamorano, Honduras. p.13.

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.

GUAMAN, J.L. 2000. Diagnóstico molecular y serológico de enfermedades virales en chile y sandía en Honduras. Proyecto especial del Programa Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 63 p.

GUERRA, M.L. 2000. Caracterización agronómica y molecular de la reacción de tomate y frijol común a geminivirus. Proyecto especial del Programa Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 63 p.

HARRIS, E. 1998. A low-Cost Approach to PCR. New York, USA. Oxford University Press. 304 p.

- HILJE, L.; ARBOLEDA, O. 1993. Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 67 p. (Informe técnico CATIE No. 205).
- JONES, J.B.; STALL, R.E.; ZITTER, T.A. 1997. Compendium of Tomato Diseases. St. Paul, Minnesota, USA. American Phytopathological Society Press. 73 p.
- LASTRES, L. 1991. Generalidades sobre los virus no persistentes de las cucúrbitas. El melonero (Honduras) (1) : 1-4.
- MARTINEZ, Y.; DEBLAS, C.; ZABALGOGEAZCOA, I.; QUIÑONES, M.; CASTELLANOS, E.L.; PERALTA, E.L.; ROMERO, J. 1999. Taino tomato mottle and Havana tomato geminiviruses (new tomato geminiviruses in Cuba). Consultado el 6/10/2001. Disponible en: <http://www.agnic.org/pmp/1999/eal1101.html>
- 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. In IV Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal. Cuba. p. 79.
- 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.
- PLUMB 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.; McGOVERN, R.J.; STANSLY, A. 1994. Tomato Yellow Leaf Curl Virus. Consultado el 15/09/01. 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.
- RAMIREZ, P.; BUSTAMANTE, R. 1996. Identificación de geminivirus. In Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. Ed por Luko Hilje. El CATIE. Turrialba, Costa Rica. p 30.
- RUEDA, A. 2000. Virus en melón. Apuntes de clase de Plagas de los cultivos Tropicales. Zamorano, Honduras.
- SANDER, D. 2001. The Big Picture Book of Viruses: Potyviridae. Consultado el 06/10/2001. Disponible en: http://www.virology.net/Big_Virology/BVRNApoty.html

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). Consultado el 15/09/01. Disponible en: <http://www.spraytec.com/articles/tylcv/tylcv.htm>

VALDIVIA, A.R. 1991. Determinación de los virus de melón y sus malezas hospederas en Choloteca, Honduras. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Proyecto especial para el grado de Maestría. Turrialba, Costa Rica. 76 p.

VALDIVIA, A.R.; LASTRES, L; CALDERON, P. 1992. Malezas del sur de Honduras identificadas como hospederos alternos de virus transmisibles a las cucurbitáceas. El melonero (Honduras) (11) : 1-3.

WALKEY, D. 1985. Applied plant virology. New York, USA. 329 p.

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. Extracción de ADN total (planta y viral), modificación de Doyle & Doyle (1990), FOCUS 12 (1): 13-15. Extracción Miniprep de ADN

Procedimiento:

1. Anotar la información de la muestra.
2. Pesar 0.1 g de tejido, seleccionar el crecimiento de nuevas hojas cuando sea posible.
3. Macerar el tejido en un mortero adicionando 600 μ l de CTAB 65 °C y 0.1 g de arena.
4. Mezclar bien y transferir con una micropipeta a un tubo microcentrífuga.
5. Adicionar un volumen (600 μ l) de cloroformo:alcohol isoamílico (24:1), invertir para mezclar.
6. Centrifugar a 12000 rpm por 10 minutos para separar las fases.
7. Remover y transferir con micropipeta la fase superior acuosa a un nuevo tubo microcentrífuga. Descartar la capa orgánica de cloroformo en un recipiente.
8. Adicionar 2/3 partes de volumen de isopropanol frío, invertir suavemente para mezclar, incubar a temperatura ambiente por toda la noche.
9. Centrifugar a 12000 rpm por 10 minutos. Cuidadosamente decantar el sobrenadante.
10. Adicionar 100 μ l de buffer frío de lavado directamente al sedimento, mezclar e incubar por 20 minutos a temperatura ambiente.
11. Centrifugar a 12000 rpm Por 5 minutos.
12. Decantar el sobrenadante y colocar los tubos en una incubadora a 37 °C por 30-60 minutos, o dejar secar en una cámara de flujo laminar por 30 minutos.

13. Resuspender el sedimento en 50 μ l de agua destilada estéril. Almacenar a 4 °C.

Materiales: Buffers de extracción de ADN

• **Buffer de Extracción CTAB:**

	1X	Mitad
NaCl (1.4 M)	81.82 g	40.91 g
EDTA (20 mM)	7.44 g	3.72 g
Trizma (mw 121.1:100 mM)	12.1 g	6.05 g
CTAB (2 %)	40 g	20 g
2-mercaptoetanol	4 ml	2 ml
Total	2.0 L	1.0 L

Disolver los reactivos en aproximadamente 1.7 L de agua destilada (850 ml si es para la mitad). Disuelva calentando hasta casi el punto de ebullición y adicione 40 g (2 %) de CTAB (Bromuro Hexadeciltrimetilamonio) o 20 g de CTAB si es para la mitad y mezcle hasta disolver. Enfríe a temperatura ambiente y ajuste a pH 8.0 con HCl concentrado. Afore a 2 L. Esterilice en el autoclave y almacene a 65 °C.

Antes de usar: Adicione 4 ml o 2 ml si es la mitad de 2-mercaptoetanol. Devuelva a la incubadora, cierre muy bien para evitar la evaporación.

• **Buffer de lavado:**

95 % etanol (76 %)	79.0 ml	7.9 ml
8 M NH ₄ Oac (10 mM)	0.125 ml	1.2 ml
Agua destilada	20.0 ml	2.0 ml
Total	100.0 ml	10.0 ml

Almacenar en el refrigerador a 4 °C

• **TE Buffer:**

Trisma base (mw 121.1:10 mM)	1.21 g
EDTA (1 mM)	0.185 g
Agua destilada	500.0 ml
pH 8.0 con HCl concentrado	
Total	500.0 ml

Autoclave y almacenar a temperatura ambiente o a 4 °C.

Protocolo de PCR para Diagnóstico de Geminivirus utilizando PCR Ready-to-go Beads

Set de Primers Universales de Judy Brown (514/1048)

	Mezcla para una reacción
Agua destilada	24.0 μ l
Primer 514	0.5 μ l
Primer 1048	0.5 μ l
Total	25.0 μ l

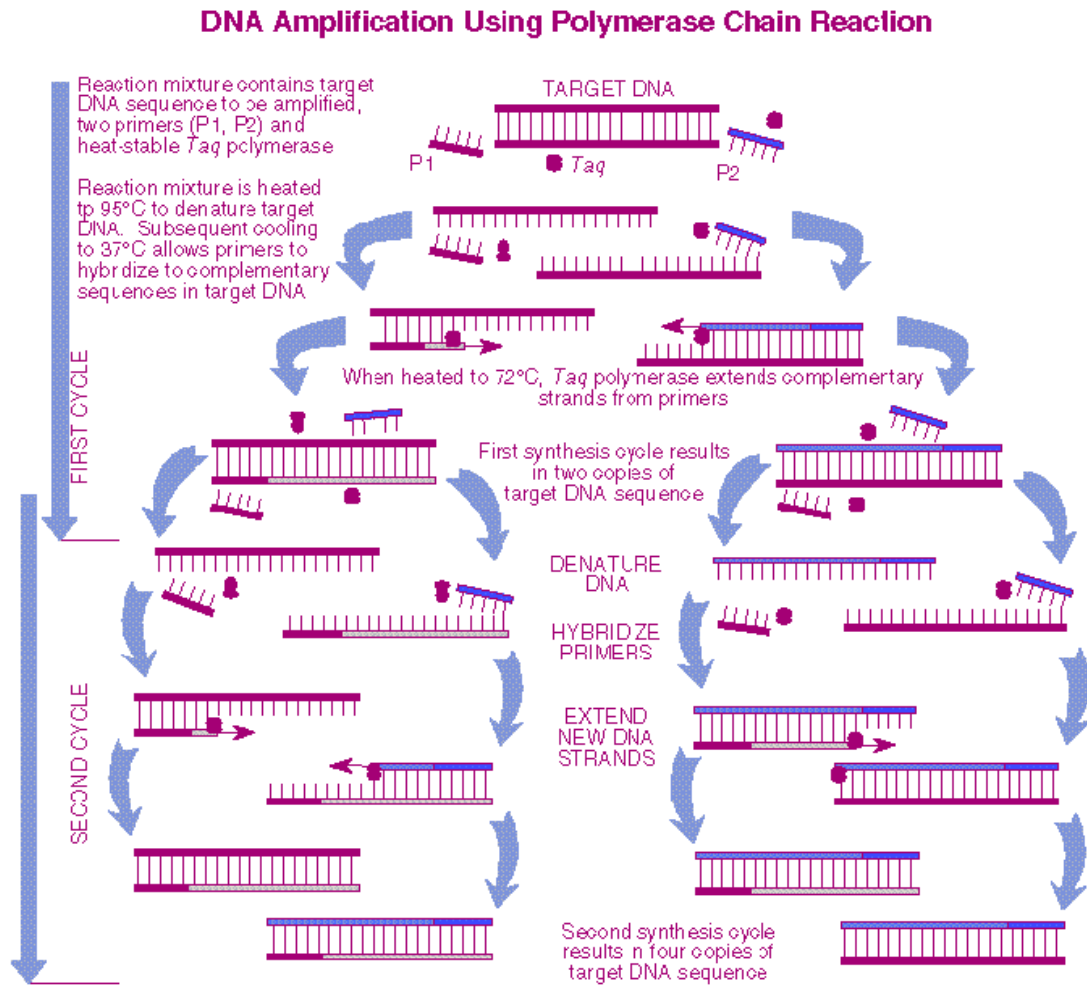
En un tubo PCR bead, adicionar 24.0 μ l de agua destilada y esperar que las perlas se disuelvan totalmente. Luego, adicionar 0.5 μ l de cada uno de los primers 514 y 1048. Transferir la mitad (12.5 μ l) de la reacción a otro tubo y colocar 1 μ l de ADN extraído de la muestra. De esta forma se obtienen dos reacciones de cada tubo PCR bead. Agregar 10-15 μ l o 1 gota de aceite mineral estéril. Colocar los tubos dentro del termociclador, cerciorándose que están bien cerrados y dar comienzo a la reacción, utilizando File No. 35.

Condiciones de PCR en termociclador:

File (archivo) 35 (1 ciclo)	94 °C - 3:00 minutos
File 36 (30 ciclos)	94 °C - 1:00 minuto
	58 °C - 1:00 minutos
	72 °C - 1:00 minuto
File 33 (1 ciclo)	72 °C - 5:00 minutos
File 7	4 °C - 8

Anexo 2. Diagrama de Amplificación de ADN usando la técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa)

ORNL-DWG 91M-17476



Source: *DNA Science*, see Fig. 13.

Fuente: <http://www-biology.ucsd.edu/others/dsmith/classes/pcr.html>

Anexo 3. Protocolos para la prueba ELISA directa e indirecta proporcionado por AGDIA

“Patroscreen kit” ELISA Indirecta para la detección de Potyvirus

1. Preparación para la prueba

- Diluya los “buffers” concentrados proporcionados en el kit a su dilución de trabajo 1X con agua destilada. Prepare “buffer” 1X para 1 día.
- Prepare los controles liofilizados de acuerdo a las instrucciones.
- Usando un marcador indeleble, enumere las tiras en caso de que alguna tira se separe del marco.
- Doble una hoja de papel toalla e introdúzcala dentro de una caja o cámara plástica sellada. Humedezca el papel, mantenga la placa en la caja húmeda durante los procesos de incubación para prevenir la evaporación de las muestras.

2. Diagrama de ubicación de muestras

- Haga una copia del diagrama de ubicación de las muestras y anote la localización de cada una de las muestras y controles. Se recomienda usar una celda de control positivo y uno de buffer en cada placa cada vez que realice una prueba.

3. Maceración y dilución de las muestras

- Cuando sea posible, seleccione el tejido mostrando síntomas según la prueba. Remueva cualquier tierra o suelo del tejido a ser examinado. Nota: contaminación con suelo puede interferir con los resultados.
- Puede usar las bolsas de extracción de Agdia, morteros y pistilos o cualquier otro instrumento para macerar las muestras. Si se usa mortero y pistilo, lave y enjuague entre cada muestra.
- Cuando haya extraído la savia de la planta, diluya la savia con “buffer” de extracción de muestra en una relación de 1:10 (volumen de savia : volumen de buffer). Si está investigando potyvirus transmitidos por áfidos usando el sistema # 27200, macere usando una relación de 1:100 (peso de tejido : volumen de buffer). Si está investigando virus de espárrago usando el sistema # 71000, macere usando una relación de 1:200 (peso de tejido: volumen de buffer).
- Necesitará 100 µl de muestra preparada para cada celda más una cantidad extra para asegurarse la facilidad de dispensar la muestra. Una forma conveniente de preparar la muestra diluída es medir 100 µl de savia no diluida en un tubo microcentrífuga, luego adicionar 1 ml de buffer de extracción de ELISA indirecta.

4. Colocación de las muestras

- Siguiendo el diagrama, coloque 100 µl de buffer de extracción de ELISA indirecta en su correspondiente celda.

5. Incubación de la placa

- Coloque la placa dentro de la cámara húmeda e incube por 1 hora.

6. Preparación del anticuerpo

- Unos cuantos minutos antes de que termine la incubación, prepare el anticuerpo, usando 1X ECI “buffer” y el vial de anticuerpo.
- Primero coloque 1X ECI “buffer”, luego adicione el anticuerpo de acuerdo a la dilución especificada en la etiqueta.
- El volumen de “buffer” 1X ECI requerido depende del número de celdas usadas para la prueba, requiriendo 100 μ l para cada celda. Para estimar el volumen necesario, preparar 1 ml para cada tira de 8 celdas usadas, o 10 ml para cada placa de 96 celdas.
- Se debe calcular el volumen de anticuerpo requerido basado en el volumen de “buffer” 1X ECI usado y en las diluciones proporcionadas en la etiqueta. Use una punta estéril para cada frasco para evitar contaminación.
- Agregue el anticuerpo y mezcle muy bien, coloque el anticuerpo preparado a un lado.

7. Lavado de la placa

- Al finalizar el tiempo de incubación de la placa lávela deteniendo los extremos de las tiras, en forma rápida decante el líquido en el lavado o en un recipiente.
- Llene todas las celdas hasta casi rebalsar con PBST 1X, luego rápidamente descarte de nuevo. Repita 4-8 veces.
- Después de lavar, mantenga las tiras hacia abajo y golpee firmemente sobre una hoja de papel de toalla para secar las celdas y eliminar “buffer”.

8. Adición de anticuerpo

- Coloque 100 μ l del anticuerpo preparado por celda.

9. Incubación de la placa

- Coloque la placa dentro de la cámara húmeda e incube por 2 horas a temperatura ambiente o por toda la noche a 4 °C en la refrigeradora.

10. Preparación del conjugado-enzima

- Minutos antes de terminar la incubación, prepare el conjugado a la enzima usando “buffer” 1X ECI y el vial del conjugado a la enzima.
- Primero coloque el “buffer” 1X ECI, luego agregue el conjugado a la enzima de acuerdo a la dilución dada en la etiqueta del vial.
- Prepare el mismo volumen de conjugado a la enzima como de anticuerpo.
- Debe calcular el volumen de conjugado a la enzima requerido basado en el volumen de “buffer” 1X ECI usado y en la dilución dada en los frascos. Use una punta nueva estéril para cada frasco para evitar la contaminación.
- Después de adicionar el conjugado a la enzima, mezcle muy bien. Es muy importante mezclar el conjugado a la enzima bien.
- Coloque el conjugado a la enzima preparado a un lado, lo necesitará después. Nota: Siempre prepare el conjugado a la enzima dentro de 10 minutos antes de ser usado.

11. Lavado de la placa

- Lave la placa 4-8 veces con 1X PBST.

12. Adición del conjugado a la enzima

- Coloque 100 μ l del conugado a la enzima preparado por celda.

13. Incubación de la placa

- Incubar la placa en cámara húmeda por 1 hora a temperatura ambiente.

14. Preparación de la solución PNP

- Cada tableta PNP hará 5 ml de solución PNP a una concentración de 1 mg/ml, casi suficiente para una tira de 8 celdas.
- Casi 15 minutos antes de terminar la incubación, mida 5 ml 1X “buffer” PNP a temperatura ambiente, por cada tableta que usará. Luego, sin tocar las tabletas, adicione las tabletas de PNP al “buffer”. Nota: No toque las tabletas de PNP o exponga la solución de PNP a luz fuerte. La luz o la contaminación puede causar color de interferencia en las celdas negativas.

15. Lavado de la placa

- Al igual que antes, lave la placa 4-8 veces con 1X PBST.

16. Adición de la solución PNP

- Coloque 100 μ l de solución PNP por cada celda.

17. Incubación de la placa

- Incube la placa por 30-60 minutos en la cámara húmeda.

18. Detención de la reacción

- Adicione 50 μ l de hidróxido de sodio 3M a cada celda. Este paso es opcional. La adición de hidróxido de sodio detiene el desarrollo de color, pero la placa puede ser interpretada visualmente o con un lector de placa.

19. Evaluación de los resultados

- Visualmente examine las celdas o lea en un lector a 405 nm.
- Las celdas en las cuales hay desarrollo de color indican un resultado positivo. Las celdas en las cuales no hay desarrollo de color significativo indican resultados negativos. Los resultados de la prueba solamente son válidos si los controles positivos dan un resultado positivo y las celdas con buffer permanecen claras.
- Los resultados pueden ser interpretados después de más de 60 minutos de incubación siempre y cuando las celdas negativas permanezcan virtualmente claras.

“Pathoscreen Kit” ELISA Directa para la detección del virus del mosaico del pepino (CMV) y el virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV)

1. Preparación para la prueba

- Diluya los “buffers” concentrados proporcionados en el “kit” a su dilución de trabajo 1X con agua destilada. Prepare suficiente “buffer” para lo que requiera en un día.
- Prepare los controles liofilizados de acuerdo a las instrucciones.
- Si usara menos de la placa entera, remueva todas las tiras que no usará y séllelas dentro de una bolsa de aluminio con desecante.
- Usando un marcador indeleble, enumere las tiras en caso de que alguna tira se separe del marco.
- Doble una hoja de papel toalla, colóquelo en el fondo de una caja o cámara plástica sellada y humedézcalo. El mantener la placa en esta caja húmeda durante los pasos de incubación ayudará a prevenir la evaporación de las muestras.

2. Diagrama de ubicación de las muestras

- Haga una copia del diagrama de ubicación de las muestras y anote la localización de cada una de las muestras y controles. Se recomienda usar una celda de control positivo y uno de buffer en cada placa cada vez que realice una prueba.

3. Maceración y dilución de las muestras

- En lo posible seleccione el tejido mostrando síntomas según la prueba. El tejido de hojas a menudo es usado para el sistema de ELISA. Brotes, semillas y otro tejido también puede usarse para el análisis.
- En algunos casos, muestras de hasta 10 hojas por celda pueden usarse para hacer el análisis más económico, sin embargo, demasiadas plantas por celda pueden reducir la sensibilidad de la prueba. Por favor contacte a Agdia si tiene preguntas sobre el muestreo o la preparación de la muestra.
- Para la mayoría de muestras, use el “buffer” de extracción general de Agdia como su “buffer” de extracción. Sin embargo, otros “buffers” son recomendados para algunas especies de plantas. Por favor contacte Agdia si tiene preguntas sobre el “buffer” de extracción adecuado para sus muestras.
- Puede usar bolsas de extracción de Agdia, un mortero y pistilo o cualquier otro instrumento para macerar las muestras. Si está usando un mortero y pistilo, lave y enjuague entre cada muestra.
- Cuando haya extraído la savia de la planta, diluya la savia con “buffer” de extracción de muestra en una relación de 1:10 (volumen de savia:volumen de “buffer”). Puede macerar tejido de la planta en “buffer” de extracción usando una relación de 1:10 (peso de tejido:volumen de “buffer”).
- Necesitará aproximadamente 100 µl de muestra preparada para cada celda más una cantidad extra para asegurarse la facilidad de dispensar la muestra. Una forma conveniente de preparar la muestra diluida es medir 100 µl de savia no diluida en un tubo microcentrífuga, luego adicionar 1 ml de “buffer” de extracción de ELISA directa.

4. Colocación de las muestras

- Siguiendo el diagrama de colocación de las muestras, coloque 100 μ l del control positivo en las celdas que le corresponden y coloque 100 μ l del “buffer” de extracción en su correspondiente celda.
5. Incubación de la placa
 - Coloque la placa dentro de la cámara húmeda e incube por 2 horas a temperatura ambiente o toda la noche en la refrigeradora a 4°C.
 6. Preparación del conjugado-enzima
 - Minutos antes de terminar la incubación, prepare el conjugado a la enzima usando “buffer” 1X ECI y los frascos de conjugados a la enzima A y B en el caso del virus del mosaico del pepino (CMV) y el vial del conjugado-enzima en el caso del virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV).
 - Para CMV primero coloque el “buffer” 1X ECI en un tubo de ensayo con tapón, luego agregue volúmenes iguales de los frascos A y B de acuerdo a las diluciones dadas en las etiquetas. Para TSWV primero coloque el “buffer” 1X ECI, luego agregue el conjugado-enzima de acuerdo a la dilución dada en las etiquetas.
 - El volumen de 1X ECI requerido depende del número de celdas a usar, necesitando 100 μ l por cada celda. Para estimar el volumen, prepare 1 ml por cada tira de 8 celdas o 10 ml por cada placa de 96 celdas.
 - Para CMV usted debe calcular los volúmenes a usar de los frascos A y B basado en el volumen usado de 1X ECI y en las diluciones dadas en los frascos; para TSWV debe calcular los volúmenes a usar del conjugado-enzima requerido basado en el volumen usado de 1X ECI y en las diluciones dadas en los frascos. Use una punta nueva estéril para cada frasco para evitar la contaminación.
 - Después de adicionar el conjugado-enzima, mezcle muy bien. Es muy importante mezclar el conjugado a la enzima bien.
 - Coloque el conjugado a la enzima preparado a un lado. Lo necesitará después de lavar la placa. Nota: Siempre prepare el conjugado a la enzima dentro de 10 minutos antes de ser usado.
 7. Lavado de la placa
 - Cuando el tiempo de incubación termine, lave la placa. Deteniendo los extremos de las tiras para mantenerlas en su lugar, en forma rápida decante el líquido en el lavabo o en un recipiente.
 - Llene todas las celdas hasta casi rebalsar con PBST 1X, luego rápidamente descarte de nuevo. Repita 4-8 veces.
 - Después de lavar, mantenga las tiras hacia abajo y golpee firmemente sobre una hoja de papel toalla para secar las celdas y/o eliminar “buffer”.
 8. Adición del conjugado a la enzima
 - Coloque 100 μ l del conjugado a la enzima preparado por celda.
 9. Incubación de la placa

- Incubar la placa en la cámara húmeda por 2 horas a temperatura ambiente.

10. Preparación de la solución PNP

- Cada tableta PNP hará 5 ml de solución PNP a una concentración de 1 mg/ ml, casi suficiente para una tira de 8 celdas.
- Casi 15 minutos antes de terminar la incubación, mida 5 ml 1X “buffer” PNP a temperatura ambiente, por cada tableta que usará. Luego, sin tocar las tabletas, adicione las tabletas de PNP al “buffer”. Nota: No toque las tabletas de PNP o exponga la solución de PNP a luz fuerte. La luz o la contaminación puede causar color de interferencia en las celdas negativas.

11. Lavado de la placa

- Igual que antes, lave la placa 4-8 veces con 1X PBST.

12. Adición de la solución PNP

- Coloque 100 µl de solución PNP por celda.

13. Incubación de la placa

- Incube la placa por 30-60 minutos en la cámara húmeda.

14. Detención de la reacción

- Adicione 50 µl de hidróxido de sodio 3M a cada celda. Este paso es opcional. La adición de hidróxido de sodio detiene el desarrollo de color, pero la placa puede ser interpretada visualmente o con un lector de placa.

15. Evaluación de los resultados

- Visualmente examine las celdas o lea en un lector a 405 nm.
- Las celdas en las cuales hay desarrollo de color indican un resultado positivo. Las celdas en las cuales no hay desarrollo de color significativo indican resultados negativos. Los resultados de la prueba solamente son válidos si los controles positivos dan un resultado positivo y las celdas negativas permanecen virtualmente claras.

Preparación de controles liofilizados para Potyvirus, CMV y TSWV

Almacene los controles a 4°C. Para preparar el control, use el mismo “buffer” de extracción de la muestra requerido para la prueba en la cual se usará el control. El volumen, en ml, bajo “contenido” en la etiqueta del control liofilizado es la cantidad de “buffer” de extracción de la muestra requerido para preparar el control. Adicione esta cantidad de “buffer” de extracción de muestra al vial y mezcle revolviendo suavemente. Los controles liofilizados son proporcionados en viales lo suficientemente grandes para retener el volumen de líquido preparado.

Preparación de alícuotas de control:

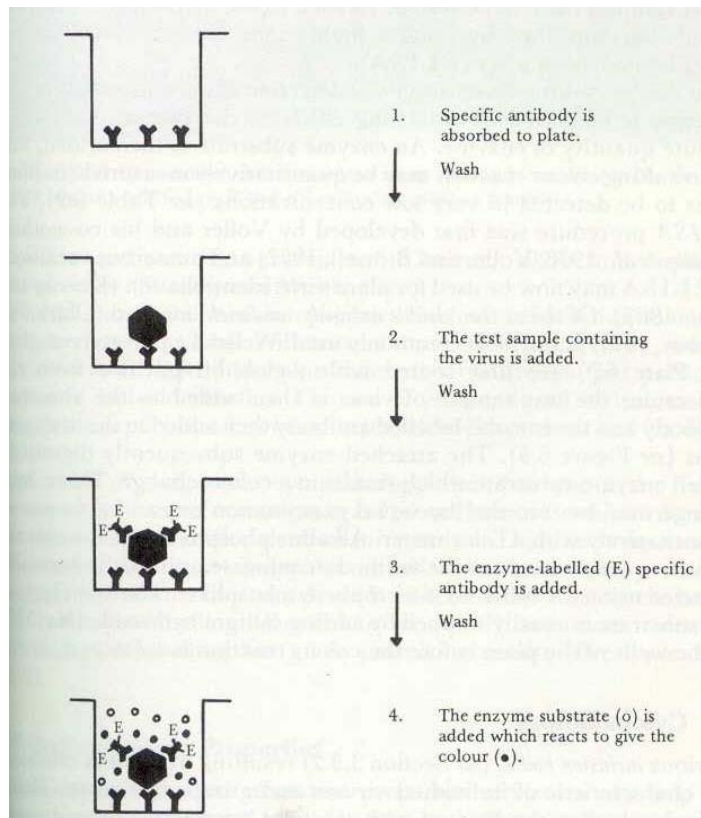
Después de preparar el control, divídalo en alícuotas, cada una suficiente para un uso por prueba. Si va a usar este control en una celda cada vez que corra la prueba, prepare alícuotas de 120 μl . Si va a usar el control den dos celdas, prepare alícuotas de 220 μl . Cada alícuota debe ser suficiente para las pruebas que se realizarán más un volumen adicional, para asegurar el dispensar fácilmente.

Las alícuotas de control deben ser almacenadas en congelación ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ en un congelador). No los descongele hasta antes de usar.

Usando los controles:

Tome una alícuota de control del congelador y deje descongelar. Al momento en que adicione los extractos de las muestras a las celdas, adicione el mismo volumen de control preparado a la celda de control adecuado. No vuelva a congelar los controles. Nota: Los controles positivos pueden contener más de un virus. Estos controles positivos son recomendados para uso en pruebas de ELISA solamente. Algunos viales de controles positivos conteniendo bacterias pueden parecer vacíos, pero no lo están.

Anexo 4. Diagrama de ELISA (DIRECTA)



Fuente: Walkey, 1985.

Anexo 5. Lista de los virus reportados en tomate, chile y sandía a nivel mundial.**TOMATE (*Lycopersicum esculentum*)**

Abelia latent tymovirus	Parsnip yellow fleck sequivirus
Abutilon mosaic bigeminivirus	Pea streak carlavirus
Alfalfa mosaic alfamovirus	Peanut clump furovirus
Arabis mosaic nepovirus	Peanut stunt cucumovirus
Arracacha A nepovirus	Pelargonium line pattern (?) carmovirus
Arracacha B (?) nepovirus	Pelargonium zonate spot ourmiavirus
Beet curly top hybrigeminivirus	Pepino mosaic potexvirus
Beet western yellows luteovirus	Pepper Indian mottle potyvirus
Blueberry leaf mottle nepovirus	Pepper mild tigré (?) bigeminivirus
Brinjal mild mosaic (?) potyvirus	Pepper Moroccan tombusvirus
Carnation mottle carmovirus	Pepper mottle potyvirus
Carrot mosaic (?) potyvirus	Pepper ringspot tobnavirus
Cassava green mottle nepovirus	Pepper severe mosaic potyvirus
Cassia mild mosaic (?) carlavirus	Pepper Texas bigeminivirus
Chickpea chlorotic dwarf (?) monogeminivirus	Pepper veinal mottle potyvirus
Chino del tomate bigeminivirus	Physalis mosaic tymovirus
Clover wound tumor phytoreovirus	Pittosporum vein yellowing nucleorhabdovirus
Commelina X potexvirus	Plantain X potexvirus
Cowpea mild mottle (?) carlavirus	Plum pox potyvirus
Croton yellow vein mosaic bigeminivirus	Potato 14R (?) tobamovirus
Cucumber mosaic cucumovirus	Potato Andean latent tymovirus
Cymbidium ringspot tombusvirus	Potato Andean mottle comovirus
Datura distortion mosaic potyvirus	Potato aucuba mosaic potexvirus
Datura innoxia Hungarian mosaic (?) potyvirus	Potato black ringspot nepovirus
Datura mosaic (?) potyvirus	Potato leafroll luteovirus
Datura necrosis potyvirus	Potato M carlavirus
Datura yellow vein nucleorhabdovirus	Potato mop-top furovirus
Dogwood mosaic (?) nepovirus	Tobacco mosaic satellivirus
Dulcamara mottle tymovirus	Tobacco mosaic tobamovirus
Eggplant green mosaic potyvirus	Tobacco mottle umbravirus
Eggplant mosaic tymovirus	Tobacco necrosis necrovirus
Eggplant mottled dwarf nucleorhabdovirus	Tobacco necrotic dwarf luteovirus
Eggplant severe mottle (?) potyvirus	Tobacco rattle tobnavirus
Elderberry latent (?) carmovirus	Tobacco ringspot nepovirus
Elm mottle ilarvirus	Tobacco streak ilarvirus
Epirus cherry ourmiavirus	Tobacco stunt varicosavirus
Foxtail mosaic potexvirus	Tobacco vein-distorting (?) luteovirus
	Tobacco vein mottling potyvirus

Groundnut eyespot potyvirus	Tobacco yellow dwarf monogeminivirus
Henbane mosaic potyvirus	Tobacco yellow net (?) luteovirus
Lettuce necrotic yellows cytorhabdovirus	Tobacco yellow vein assistor (?) luteovirus
Maracuja mosaic (?) tobamovirus	Tobacco yellow vein (?) umbravirus
Marigold mottle potyvirus	Tomato aspermy cucumovirus
Melilotus mosaic (?) potyvirus	Tomato Australian leafcurl bigeminivirus
Melon Ourmia ourmiavirus	Tomato black ring nepovirus
Nerine X potexvirus	Tomato bushy stunt tombusvirus
Okra leaf-curl bigeminivirus	Tomato chlorotic spot (?) tospovirus
Ononis yellow mosaic tymovirus	Tomato golden mosaic bigeminivirus
Parietaria mottle ilarvirus	Tomato infectious chlorosis (?) closterovirus
Potato Y potyvirus	Tomato mild mottle (?) potyvirus
Potato U nepovirus	Tomato mosaic tobamovirus
Potato V potyvirus	Tomato mottle bigeminivirus
Potato yellow mosaic bigeminivirus	Tomato Peru potyvirus
Raspberry ringspot nepovirus	Tomato pseudo curly top (?) hybrigeminivirus
Red clover necrotic mosaic dianthovirus	Tomato ringspot nepovirus
Ribgrass mosaic tobamovirus	Tomato spotted wilt tospovirus
Rose (?) tobamovirus	Tomato top necrosis (?) nepovirus
Rubus Chinese seed-borne (?) nepovirus	Tomato vein clearing nucleorhabdovirus
Serrano golden mosaic bigeminivirus	Tomato yellow leaf curl bigeminivirus
Solanum apical leaf curling (?) bigeminivirus	Tomato yellow mosaic bigeminivirus
Soybean crinkle leaf (?) bigeminivirus	Tulip chlorotic blotch potyvirus
Soybean mild mosaic virus	Tulip X potexvirus
Strawberry latent ringspot (?) nepovirus	Turnip crinkle carmovirus
Sunflower ringspot (?) ilarvirus	Ullucus mild mottle tobamovirus
Sweet potato mild mottle ipomovirus	White clover mosaic potexvirus
Tamarillo mosaic potyvirus	Wild potato mosaic potyvirus
Tamus latent (?) potexvirus	Wineberry latent virus
Tobacco etch potyvirus	
Tobacco leaf curl bigeminivirus	
Tobacco mild green mosaic tobamovirus	

CHILE (*Capsicum spp.*)

Alfalfa mosaic alfamovirus	Pepper mottle potyvirus
Bean distortion dwarf (?) bigeminivirus	Pepper ringspot tobavirus
Beet western yellows luteovirus	Pepper severe mosaic potyvirus
Cassia mild mosaic (?) carlavirus	Pepper Texas bigeminivirus
Celery latent (?) potyvirus	Pepper veinal mottle potyvirus
Chilli veinal mottle (?) potyvirus	Physalis mosaic tymovirus
Chino del tomaté bigeminivirus	Pittosporum vein yellowing

Cucumber mosaic cucumovirus	nucleorhabdovirus
Datura distortion mosaic potyvirus	Potato aucuba mosaic potexvirus
Eggplant mosaic tymovirus	Potato mop-top furovirus
Eggplant mottled dwarf nucleorhabdovirus	Potato Y potyvirus
Eggplant severe mottle (?) potyvirus	Red pepper 1 (?) alphacryptovirus
Henbane mosaic potyvirus	Red pepper 2 (?) alphacryptovirus
Marigold mottle potyvirus	Ribgrass mosaic tobamovirus
Melon Ourmia ourmiavirus	Serrano golden mosaic bigeminivirus
Paprika mild mottle tobamovirus	Sweet potato ringspot (?) nepovirus
Peanut stunt cucumovirus	Tobacco etch potyvirus
Pelargonium vein clearing (?) cytorhabdovirus	Tobacco leaf curl bigeminivirus
Pepper hausteco bigeminivirus	Tobacco mild green mosaic tobamovirus
Pepper Indian mottle potyvirus	Tobacco mosaic satellivirus
Pepper mild mosaic (?) potyvirus	Tobacco rattle tobavirus
Pepper mild mottle tobamovirus	Tobacco streak ilarvirus
Pepper mild tigré (?) bigeminivirus	Tomato bushy stunt tombusvirus
Pepper Moroccan tombusvirus	Tomato mosaic tobamovirus
	Tomato Peru potyvirus
	Tomato spotted wilt tospovirus

SANDIA (*Citrullus lanatus*)

Beet curly top hybrigeminivirus	Peanut mottle potyvirus
Beet western yellows luteovirus	Peanut stunt cucumovirus
Cassia mild mosaic (?) carlavirus	Ribgrass mosaic tobamovirus
Cole latent (?) carlavirus	Squash mosaic comovirus
Cucumber green mottle mosaic tobamovirus	Strawberry latent ringspot (?) nepovirus
Cucumber mosaic cucumovirus	Trichosanthes mottle (?) potyvirus
Cucumber vein yellowing virus	Watermelon chlorotic stunt bigeminivirus
Lettuce infectious yellows (?) closterovirus	Watermelon curly mottle bigeminivirus
Melon leaf curl bigeminivirus	Watermelon Moroccan mosaic (?) potyvirus
Melon necrotic spot carmovirus	Watermelon mosaic 1 potyvirus
Melon rugose mosaic tymovirus	Watermelon mosaic 2 potyvirus
Melothria mottle (?) potyvirus	Wild cucumber mosaic tymovirus
Okra mosaic tymovirus	Zucchini yellow fleck potyvirus
	Zucchini yellow mosaic potyvirus

Fuente: Brunt *et al.*, 1996.

Anexo 6. Descripción de las muestras recolectadas de acuerdo al cultivo y lugar.

Muestra	Fecha	Lugar	Cultivo	Cultivos aledaños	GV	POTY	CMV	TSWV	GV+POTY	GV+CMV
3CNC-280	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CNC-281	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CNC-282	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CNC-283	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CNC-284	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CNC-285	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CNC-286	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CNC-287	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CNC-288	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CNC-289	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CNC-290	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CNC-291	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CNC-292	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CNC-293	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CNC-294	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CNC-295	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CNC-296	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CNC-297	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CNC-298	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CNC-299	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CNC-300	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CNC-301	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CNC-302	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CNC-303	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CNC-304	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CNC-305	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CNC-306	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CNC-307	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CNC-308	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CNC-309	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CNC-310	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CNC-311	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CNC-312	20/04/01	Comayagua	Chile jalapeño	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3OS-313	26/04/01	Olancho	Sandía	Sandía, maíz	-	-	-	-	-	-

Muestra	Fecha	Lugar	Cultivo	Cultivos aledaños	GV	POTY	CMV	TSWV	GV+POTY	GV+CMV
3OS-314	26/04/01	Olancho	Sandía	Sandía, maíz	-	+	-	-	-	-
3OS-315	26/04/01	Olancho	Sandía	Sandía, maíz	-	+	-	-	-	-
3OS-316	26/04/01	Olancho	Sandía	Sandía, maíz	-	-	-	-	-	-
3OM-317	26/04/01	Olancho	Paste	Sandía, maíz	-	+	-	-	-	-
3OS-318	26/04/01	Olancho	Sandía	Sandía, maíz	-	-	-	-	-	-
3OS-319	26/04/01	Olancho	Sandía	Sandía, maíz	-	-	-	-	-	-
3OS-320	26/04/01	Olancho	Sandía	Sandía, maíz	-	-	-	-	-	-
3OS-321	26/04/01	Olancho	Sandía	Sandía, maíz	-	-	-	-	-	-
3OS-322	26/04/01	Olancho	Sandía	Sandía, maíz	-	-	-	-	-	-
3OM-323	26/04/01	Olancho	Paste	Sandía, maíz	+	-	-	-	-	-
3OS-324	26/04/01	Olancho	Sandía	Sandía, maíz	+	-	-	-	-	-
3OS-325	26/04/01	Olancho	Sandía	Sandía, maíz	-	-	-	-	-	-
3OM-326	26/04/01	Olancho	Calabaza	Sandía, maíz	+	-	-	-	-	-
3OM-327	26/04/01	Olancho	Calabaza	Sandía, maíz	+	-	-	-	-	-
3OS-328	26/04/01	Olancho	Sandía	Sandía, maíz	+	-	-	-	-	-
3OS-329	26/04/01	Olancho	Sandía	Sandía, maíz	-	-	-	-	-	-
3OS-330	26/04/01	Olancho	Sandía	Sandía, maíz	+	-	-	-	-	-
3OS-331	26/04/01	Olancho	Sandía	Sandía, maíz	+	-	-	-	-	-
3CHS-332	30/04/01	Choluteca	Sandía	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CHS-333	30/04/01	Choluteca	Sandía	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CHS-334	30/04/01	Choluteca	Sandía	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CHS-335	30/04/01	Choluteca	Sandía	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CHS-336	30/04/01	Choluteca	Sandía	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CHS-337	30/04/01	Choluteca	Sandía	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CHS-338	30/04/01	Choluteca	Sandía	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CHS-339	30/04/01	Choluteca	Sandía	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CHS-340	30/04/01	Choluteca	Sandía	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3VM-341	1/5/01	Valle	Cleome viscosa	Chile jalapeño, sandía	+	-	-	-	-	-
3VM-342	1/5/01	Valle	Solanácea	Chile jalapeño, sandía	+	-	-	-	-	-
3VS-343	1/5/01	Valle	Sandía	Chile jalapeño, sandía	+	+	-	-	+	-
3VM-344	1/5/01	Valle	Ayote	Chile jalapeño, sandía	+	+	-	-	+	-

Muestra	Fecha	Lugar	Cultivo	Cultivos aledaños	GV	POTY	CMV	TSWV	GV+POTY	GV+CMV
3VS-345	1/5/01	Valle	Sandía	Chile jalapeño, sandía	+	+	-	-	+	-
3VS-346	1/5/01	Valle	Sandía	Chile jalapeño, sandía	+	+	-	-	+	-
3VS-347	1/5/01	Valle	Sandía	Chile jalapeño, sandía	+	+	-	-	+	-
3VS-348	1/5/01	Valle	Sandía	Chile jalapeño, sandía	+	+	-	-	+	-
3VS-349	1/5/01	Valle	Sandía	Chile jalapeño, sandía	-	+	-	-	-	-
3VS-350	1/5/01	Valle	Sandía	Chile jalapeño, sandía	-	+	-	-	-	-
3VS-351	1/5/01	Valle	Sandía	Chile jalapeño, sandía	-	+	-	-	-	-
3VM-352	1/5/01	Valle	Melón	Chile jalapeño, sandía	-	+	-	-	-	-
3VS-353	1/5/01	Valle	Sandía	Chile jalapeño, sandía	+	+	-	-	-	-
3VS-354	1/5/01	Valle	Sandía	Chile jalapeño, sandía	+	+	-	-	-	-
3VS-355	1/5/01	Valle	Sandía	Chile jalapeño, sandía	-	+	-	-	-	-
3VS-356	1/5/01	Valle	Sandía	Chile jalapeño, sandía	+	+	-	-	-	-
3VS-357	1/5/01	Valle	Sandía	Chile jalapeño, sandía	-	+	-	-	-	-
3VS-358	1/5/01	Valle	Sandía	Chile jalapeño, sandía	+	-	-	-	-	-
3VS-359	1/5/01	Valle	Sandía	Chile jalapeño, sandía	+	-	-	-	-	-
3VS-360	1/5/01	Valle	Sandía	Chile jalapeño, sandía	-	-	-	-	-	-
3CHC-361	30/04/01	Choloteca (Y)	Chile dulce	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CHC-362	30/04/01	Choloteca (Y)	Chile dulce	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CHM-363	30/04/01	Choloteca (Y)	Cucurbitácea	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CHM-364	30/04/01	Choloteca (Y)	Paste	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CHC-365	30/04/01	Choloteca (Y)	Chile dulce	Chile dulce	+	-	-	-	-	-

Muestra	Fecha	Lugar	Cultivo	Cultivos aledaños	GV	POTY	CMV	TSWV	GV+POTY	GV+CMV
3CHC-366	30/04/01	Choluloteca (Y)	Chile dulce	Chile dulce	-	-	-	-	-	-
3CHC-367	30/04/01	Choluloteca (Y)	Chile dulce	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CHC-368	30/04/01	Choluloteca (Y)	Chile dulce	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CHC-369	30/04/01	Choluloteca (Y)	Chile dulce	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CHC-370	30/04/01	Choluloteca (Y)	Chile dulce	Chile dulce	+	-	-	-	-	-
3CHT-371	29/04/01	Choluloteca (S.M)	Tomate	Tomate, sandía	-	-	-	-	-	-
3CHT-372	29/04/01	Choluloteca (S.M)	Tomate	Tomate, sandía	-	-	-	-	-	-
3CHT-373	29/04/01	Choluloteca (S.M)	Tomate	Tomate, sandía	-	-	-	-	-	-
3CHT-374	29/04/01	Choluloteca (S.M)	Tomate	Tomate, sandía	-	-	-	-	-	-
3CHT-375	29/04/01	Choluloteca (S.M)	Tomate	Tomate, sandía	-	-	-	-	-	-
3CHT-376	29/04/01	Choluloteca (S.M)	Tomate	Tomate, sandía	-	-	-	-	-	-
3CHT-377	29/04/01	Choluloteca (S.M)	Tomate	Tomate, sandía	+	-	-	-	-	-
3CHT-378	29/04/01	Choluloteca (S.M)	Tomate	Tomate, sandía	-	-	-	-	-	-
3CHT-379	29/04/01	Choluloteca (S.M)	Tomate	Tomate, sandía	-	-	-	-	-	-
3CHT-380	29/04/01	Choluloteca (S.M)	Tomate	Tomate, sandía	-	-	-	-	-	-
3CHT-381	29/04/01	Choluloteca (S.M)	Tomate	Tomate, sandía	-	-	-	-	-	-
3CHT-382	29/04/01	Choluloteca (S.M)	Tomate	Tomate, sandía	-	-	-	-	-	-
3CHM-383	29/04/01	Choluloteca (S.M)	Datura stramonium	Tomate, sandía	+	-	-	-	-	-
3CHT-384	29/04/01	Choluloteca (S.M)	Tomate	Tomate, sandía	-	-	-	-	-	-
3VC-385	1/5/01	Valle	Chile	Sandía	+	-	-	-	-	-
3VC-386	1/5/01	Valle	Chile	Sandía	+	-	-	-	-	-
3VC-387	1/5/01	Valle	Chile	Sandía	+	-	-	-	-	-
3VC-388	1/5/01	Valle	Chile	Sandía	+	-	-	-	-	-
3VC-389	1/5/01	Valle	Chile	Sandía	+	-	-	-	-	-
3VC-390	1/5/01	Valle	Chile	Sandía	+	-	-	-	-	-
3VC-391	1/5/01	Valle	Chile	Sandía	+	-	-	-	-	-
3VC-392	1/5/01	Valle	Chile	Sandía	-	-	-	-	-	-
3VM-393	1/5/01	Valle	Boerhavia erecta	Sandía	+	-	-	-	-	-
3VM-394	1/5/01	Valle	Melón	Sandía	+	-	-	-	-	-
3ZC-395	5/5/01	Zamorano	Chile dulce	Tomate, papa	+	-	-	-	-	-
3ZC-396	5/5/01	Zamorano	Chile dulce	Tomate, papa	-	-	-	-	-	-
3ZC-397	5/5/01	Zamorano	Chile dulce	Tomate, papa	+	-	-	-	-	-
3ZC-398	5/5/01	Zamorano	Chile dulce	Tomate, papa	+	-	-	-	-	-
3ZC-399	5/5/01	Zamorano	Chile dulce	Tomate, papa	-	-	-	-	-	-

Muestra	Fecha	Lugar	Cultivo	Cultivos aledaños	GV	POTY	CMV	TSWV	GV+POTY	GV+CMV
3ZC-400	5/5/01	Zamorano	Chile dulce	Tomate, papa	-	-	-	-	-	-
3ZC-401	5/5/01	Zamorano	Chile dulce	Tomate, papa	-	-	-	-	-	-
3ZC-402	5/5/01	Zamorano	Chile dulce	Tomate, papa	+	-	-	-	-	-
3ZM-403	5/5/01	Zamorano	Pepino	Tomate, papa	-	-	-	-	-	-
3ZC-404	5/5/01	Zamorano	Chile dulce	Tomate, papa	-	-	-	-	-	-
3ZC-405	5/5/01	Zamorano	Chile dulce	Tomate, papa	+	-	-	-	-	-
3ZC-406	5/5/01	Zamorano	Chile dulce	Tomate, papa	-	-	-	-	-	-
3ZC-407	5/5/01	Zamorano	Chile dulce	Tomate, papa	+	-	-	-	-	-
3ZC-408	5/5/01	Zamorano	Chile dulce	Tomate, papa	-	-	-	-	-	-
3ZC-409	5/5/01	Zamorano	Chile dulce	Tomate, papa	+	-	-	-	-	-
3ZT-410	5/5/01	Zamorano	Tomate	Tomate, chile	+	-	-	-	-	-
3ZT-411	5/5/01	Zamorano	Tomate	Tomate, chile	+	-	-	-	-	-
3ZT-412	5/5/01	Zamorano	Tomate	Tomate, chile	+	-	-	-	-	-
3ZT-413	5/5/01	Zamorano	Tomate	Tomate, chile	+	-	-	-	-	-
3ZT-414	5/5/01	Zamorano	Tomate	Tomate, chile	-	-	-	-	-	-
3ZM-415	5/5/01	Zamorano	Nicandra Physalodes	Tomate, chile	+	-	-	-	-	-
3ZT-416	5/5/01	Zamorano	Tomate	Tomate, chile	+	-	-	-	-	-
3ZT-417	5/5/01	Zamorano	Tomate	Tomate, chile	+	-	-	-	-	-
3COS-418	5/14/01	Copán	Sandía	Sandía y frijol	+	+	-	-	+	-
3COC-419	5/14/01	Copán	Chile	Sandía y frijol	+	-	-	-	-	-
3COM-420	5/14/01	Copán	Melampodium divaricatum	Sandía y frijol	-	-	-	-	-	-
3COC-421	5/14/01	Copán	Chile	Sandía y frijol	-	-	-	-	-	-
3COC-422	5/14/01	Copán	Chile	Sandía y frijol	+	-	+	-	-	+
3COC-423	5/14/01	Copán	Chile	Sandía y frijol	+	-	+	-	-	+
3COC-424	5/14/01	Copán	Chile	Sandía y frijol	+	-	+	-	-	+
3COC-425	5/14/01	Copán	Chile	Sandía y frijol	-	-	+	-	-	-
3COC-426	5/14/01	Copán	Chile	Sandía y frijol	-	-	+	-	-	-
3COC-427	5/14/01	Copán	Chile	Sandía y frijol	+	-	+	-	-	-
3COC-428	5/14/01	Copán	Chile	Sandía y frijol	-	-	+	-	-	-
3COS-429	5/14/01	Copán	Sandía	Sandía y frijol	+	-	-	-	-	-
3FMT-430	5/15/01	Fco. Morazán	Tomate	Tomate y papaya	-	-	-	-	-	-
3FMT-431	5/15/01	Fco. Morazán	Tomate	Tomate y papaya	-	-	-	-	-	-
3FMT-432	5/15/01	Fco. Morazán	Tomate	Tomate y papaya	-	-	-	-	-	-
3FMT-433	5/15/01	Fco. Morazán	Tomate	Tomate y papaya	-	-	-	-	-	-

Muestra	Fecha	Lugar	Cultivo	Cultivos aledaños	GV	POTY	CMV	TSWV	GV+POTY	GV+CMV
3FMT-434	5/15/01	Fco. Morazán	Tomate	Tomate y papaya	-	-	-	-	-	-
3FMT-435	5/15/01	Fco. Morazán	Tomate	Tomate y papaya	-	-	-	-	-	-
3FMT-436	5/15/01	Fco. Morazán	Tomate	Tomate y papaya	-	-	-	-	-	-
3FMT-437	5/15/01	Fco. Morazán	Tomate	Tomate y papaya	-	-	-	-	-	-
3FMT-438	5/15/01	Fco. Morazán	Tomate	Tomate y papaya	-	-	-	-	-	-
3CHS-439	5/23/01	Choluloteca (A)	Sandía	Melón y sandía	-	+	-	-	-	-
3CHM-440	5/23/01	Choluloteca (A)	Boerhavia erecta	Melón y sandía	-	-	-	-	-	-
3CHM-441	5/23/01	Choluloteca (A)	Euphorbia heterophylla	Melón y sandía	-	-	-	-	-	-
3CHM-442	5/23/01	Choluloteca (A)	Acalypha sp.	Melón y sandía	-	-	-	-	-	-
3CHC-443	5/23/01	Choluloteca (A)	Chile	Melón y sandía	+	-	-	-	-	-
3CHM-444	5/23/01	Choluloteca (A)	Cleome viscosa	Melón y sandía	+	-	-	-	-	-
3CHS-445	5/23/01	Choluloteca (A)	Sandía	Melón y sandía	-	+	-	-	-	-
3CHM-446	5/23/01	Choluloteca (A)	Melanthera nivea	Melón y sandía	-	-	-	-	-	-
3CHM-447	5/23/01	Choluloteca (A)	Solanácea	Melón y sandía	-	-	-	-	-	-
3CHM-448	5/23/01	Choluloteca (A)	Heliotropum indicum	Melón y sandía	-	-	-	-	-	-
3CHM-449	5/23/01	Choluloteca (A)	Rubiácea	Melón y sandía	-	-	-	-	-	-
3CHM-450	5/23/01	Choluloteca (A)	Kallstroemia maxima	Melón y sandía	-	-	-	-	-	-
3CHM-451	5/23/01	Choluloteca (A)	Melón	Melón y sandía	-	-	-	-	-	-
3CHM-452	5/23/01	Choluloteca (A)	Portulaca olerácea	Melón y sandía	-	-	-	-	-	-
3CHC-453	5/23/01	Choluloteca (A)	Chile	Melón y sandía	-	-	-	-	-	-
3CHM-454	5/23/01	Choluloteca (A)	Sin indentificación	Melón y sandía	+	-	-	-	-	-
3CHM-455	5/23/01	Choluloteca (A)	Melón	Melón y sandía	-	+	-	-	-	-
3CHM-456	5/23/01	Choluloteca (A)	Baltimora recta	Melón y sandía	-	-	-	-	-	-
3CHC-457	5/23/01	Choluloteca (A)	Chile	Pastos	-	-	-	-	-	-
3CHC-458	5/23/01	Choluloteca (A)	Chile	Pastos	-	-	-	-	-	-
3CHM-459	5/23/01	Choluloteca (A)	Cleome viscosa	Pastos	+	-	-	-	-	-
3CHC-460	5/23/01	Choluloteca (A)	Chile	Pastos	-	-	-	-	-	-
3CHC-461	5/23/01	Choluloteca (A)	Chile	Pastos	-	-	-	-	-	-
3CHC-462	5/23/01	Choluloteca (A)	Chile	Pastos	-	-	-	-	-	-
3CHC-463	5/23/01	Choluloteca (A)	Chile	Pastos	-	-	-	-	-	-
3CHC-464	5/23/01	Choluloteca (Y)	Chile	Melón	-	-	-	-	-	-
3CHC-465	5/23/01	Choluloteca (Y)	Chile	Melón	+	-	-	-	-	-
3CHC-466	5/23/01	Choluloteca (Y)	Chile	Melón	+	-	-	-	-	-
3CHC-467	5/23/01	Choluloteca (Y)	Chile	Melón	-	-	-	-	-	-

Muestra	Fecha	Lugar	Cultivo	Cultivos aledaños	GV	POTY	CMV	TSWV	GV+POTY	GV+CMV
3CHM-468	5/23/01	Choluloteca (S.M)	Solanácea	Tomate	-	-	-	-	-	-
3CHM-469	5/23/01	Choluloteca (S.M)	Euphorbia sp.	Tomate	-	-	-	-	-	-
3CHM-470	5/23/01	Choluloteca (S.M)	Sclerocarpus phyllocephalus	Tomate	-	-	-	-	-	-
3CHM-471	5/23/01	Choluloteca (S.M)	Malvacea	Tomate	-	-	-	-	-	-
3CHM-472	5/23/01	Choluloteca (S.M)	Solanácea (cuajada)	Tomate	-	-	-	-	-	-
3CHM-473	5/23/01	Choluloteca (S.M)	Bidens pilosa	Tomate	-	-	-	-	-	-
3CHM-474	5/23/01	Choluloteca (S.M)	Amaranthus sp.	Tomate	-	-	-	-	-	-
3CHM-475	5/23/01	Choluloteca (S.M)	Datura stramonium	Tomate	-	-	-	-	-	-
3CT-476	5/28/01	Comayagua	Tomate	Cucurbitáceas	-	-	-	-	-	-
3CT-477	5/28/01	Comayagua	Tomate	Cucurbitáceas	-	-	-	-	-	-
3CM-478	5/28/01	Comayagua	Malvastrum coromandelianum	Cucurbitáceas	-	-	-	-	-	-
3CB-479	5/28/01	Comayagua	Berenjena	Cucurbitáceas	-	-	-	-	-	-
3CM-480	5/28/01	Comayagua	Momordica charantia	Cucurbitáceas	-	-	-	-	-	-
3CM-481	5/28/01	Comayagua	Solanum torvum	Cucurbitáceas	-	-	-	-	-	-
3CO-482	5/28/01	Comayagua	Okra china	Cucurbitáceas	-	+	-	-	-	-
3CP-483	5/28/01	Comayagua	Pepino peludo	Cucurbitáceas	-	-	-	-	-	-

GV: geminivirus. POTY: potyvirus. CMV: Virus del mosaico del pepino. TSWV: Virus de la marchitez manchada del tomate.
 GV+POTY: geminivirus+potyvirus. GV+CMV: geminivirus+virus del mosaico del pepino.