



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSGRADO DE FITOSANIDAD

FITOPATOLOGÍA

VIRUS ASOCIADOS AL CULTIVO DE JITOMATE EN EL ESTADO DE MORELOS

MOISES PÉREZ ROJAS

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRÍA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2013

La presente tesis titulada “**Virus asociados al cultivo de jitomate en el Estado de Morelos**” realizada por el alumno: **Moises Pérez Rojas**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
FITOPATOLOGÍA

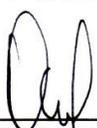
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



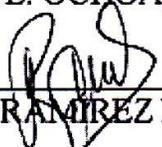
DRA. GUADALUPE VALDOVINOS PONCE

ASESOR



DR. DANIEL L. OCHOA MARTÍNEZ

ASESOR



DR. SERGIO RAMÍREZ ROJAS

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Junio de 2013

RESUMEN

En un invernadero comercial de jitomate ubicado en Zacatepec, Morelos, se realizaron aplicaciones independientes de miel de abeja, *Saccharomyces cerevisiae*, ácido acetil salicílico, cobre-manganeso-zinc y acibenzolar S-metil para determinar su efecto sobre el rendimiento, incidencia y severidad de virosis en este cultivo. Adicionalmente, se evaluó el extracto de clavo como repelente de mosca blanca. Las plantas tratadas con levadura tuvieron la menor incidencia en la primera fecha de evaluación. Plantas asperjadas con acibenzolar S-metil mostraron la menor severidad en las tres primeras fechas de evaluación, mientras que las tratadas con miel presentaron los valores más altos de incidencia en todas las fechas de evaluación. El extracto de clavo no funcionó como repelente de mosca blanca. El rendimiento de las plantas asperjadas independientemente con los distintos tratamientos fue igual al testigo comercial; sin embargo, las tratadas con levadura y ácido acetil salicílico tuvieron la mayor relación beneficio/costo. En otra investigación, se hizo un recorrido por zonas productoras de jitomate bajo cubierta en el estado de Morelos. Se realizó un muestreo dirigido a plantas con síntomas de virosis. Se extrajeron ARN y ADN total para determinar (mediante PCR y RT-PCR) la presencia de *Begomovirus*, *Potexvirus*, *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) y *Tobacco mosaic virus* (TMV). Las muestras fueron negativas para *Begomovirus*, *Potexvirus* y TMV. Una muestra de la localidad de Mazatepec fue positiva para el virus TSWV.

Palabras clave: *Solanum lycopersicum*, virus, incidencia, severidad, rendimiento, control.

ABSTRACT

In a tomato commercial greenhouse located in Zacatepec, Morelos, honey, *Saccharomyces cerevisiae*, acetyl salicylic acid, copper-manganese-zinc, and S-methyl acibenzolar were applied independently to evaluate its effect on yield, incidence and severity of viral diseases in this crop. Additionally, it was evaluated a clove extract as a whitefly repellent. Yeast treated plants had the lowest incidence at the first evaluation date. Sprayed plants with S-methyl acibenzolar showed less severity at the first three evaluation dates, while those ones treated with honey had the highest values of incidence at all evaluation dates. The clove extract did not work as a repellent of whiteflies. Tomato production of sprayed plants with the different treatments was similar to control plants; however, plants sprayed with yeast or acetyl salicylic acid had the highest cost/profit relationship.

Additionally, it was carried out an inspection journey into protected tomato producing areas in Axochiapan, Mazatepec, Yautepec, and Zacatepec in the state of Morelos. Total RNA and DNA were isolated from stunted plants and leaves with chlorotic spots, deformation or yellowing. One sample collected in Mazatepec was positive to TSWV.

Keywords: *Solanum lycopersicum*, virus, incidence, severity, yield, control

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo brindado durante el periodo de estudios.

Al Colegio de Postgraduados, por permitirme continuar con mi preparación profesional.

Al proyecto FOMIX: Estudios Epidemiológicos de Enfermedades y Bioecología de Plagas en Cultivos de Importancia Económica en el Estado de Morelos, con clave: MOR-2010-C01-148902, por su apoyo en la realización de esta tesis.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECyT), por el apoyo para la realización de esta tesis.

A mi consejo particular: Dra. Guadalupe Valdovinos Ponce, Dr. Daniel L. Ochoa Martínez y Dr. Sergio Ramírez Rojas, por su apoyo y guía para desarrollar la presente tesis.

Al Dr. Cristian Nava Díaz, por su apoyo y sugerencias en la realización de este trabajo.

A mis compañeros, por su amistad y ayuda en todo este proceso.

DEDICATORIA

A mis padres, porque a pesar de la distancia siempre están conmigo.

A mis hermanos Jaqueline, Humberto, Rosalba, Marisol, Gabriel, Jorge y en especial a Sara (siguiendo tus pasos), porque su presencia y apoyo me han ayudado siempre. Las palabras no son suficientes para expresarles el agradecimiento y orgullo que siento por ustedes.

A mis amigos que fueron como mi familia en los buenos y malos momentos.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Estados productores de jitomate en México.	1
Tabla 2. Virus que afectan al cultivo de jitomate en México.	4

LISTA DE CUADROS

Cuadro 2.1 Distribución de los tratamientos en el invernadero. Testigo comercial (T), miel de abeja (M), levadura de cerveza (L), acibenzolar S-metil (A), extracto de clavo (E), ácido acetil salicílico (AAS) y cobre-manganeso-zinc (Cu-Mn-Zn).	46
Cuadro 2.2 Relación beneficio/costo (B/C) del cultivo de jitomate sometido a diversos tratamientos bajo condiciones de invernadero en el municipio de Zacatepec, Morelos. ..	58

LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1** Escala nominal de severidad. Planta sana (S), síntomas en el 2.5 % de la planta (V1), síntomas en el 25 % de la planta (V2), síntomas en el 50 % de la planta (V3), síntomas en el 75 % de la planta (V4), síntomas en el 100 % de la planta (V5). 48
- Figura 2.2** Síntomas más comunes observados en el invernadero de Zacatepec, Morelos durante el ciclo del cultivo de jitomate. Manchas rojizas en folíolos y mosaico (A); mosaico, enrollamiento y distorsión de la lámina foliar (B); distorsión de hojas (C); achaparramiento (D). 50
- Figura 2.3** Incidencia de plantas con síntomas de virosis asperjadas independientemente con miel de abeja (M), acibenzolar S-metil (A), ácido acetil salicílico (AAS), extracto de clavo (E), cobre-manganeso-zinc (Cu-Mn-Zn) y levadura (L). Testigo comercial (T). Cada barra representa el promedio de 25 plantas evaluadas. Para cada tratamiento, barras con diferente letra son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$). 51
- Figura 2.4** Distribución espacio-temporal de la incidencia de virosis en plantas de jitomate cultivadas en invernadero en Zacatepec, Morelos. 52
- Figura 2.5** Porcentaje de severidad de virosis en plantas de jitomate asperjadas independientemente con miel de abeja (M), acibenzolar S-metil (A), ácido acetil salicílico (AAS), extracto de clavo (E), cobre-manganeso-zinc (Cu-Mn-Zn) y levadura (L). Testigo comercial (T). Cada barra representa el promedio de 25 plantas evaluadas. Para cada tratamiento, barras con diferente letra son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$). ... 53
- Figura 2.6** Distribución espacio-temporal de la severidad de virosis de plantas de jitomate cultivadas en invernadero en Zacatepec, Morelos. Las flechas indican una misma área de la parcela experimental en distintas fechas de evaluación para comparar el progreso de la severidad. 54
- Figura 2.7** Número de moscas blancas (*Bemisia tabaci*) en hojas de jitomate tratadas con extracto de clavo. Cuarta fecha de evaluación (5 de agosto). Cada barra representa el promedio del número de moscas presentes en el envés de las hojas de cinco plantas. Para

cada tratamiento, barras con letra diferente son estadísticamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$).	56
Figura 2.8 Distribución espacio-temporal de mosca blanca (<i>Bemisia tabaci</i>) en plantas de jitomate cultivadas en invernadero en Zacatepec, Morelos.	57
Figura 3.1 Estado de Morelos. Producción de jitomate bajo cubierta	73
Figura 3.2 Plantas de jitomate con síntomas de virosis en Zacatepec, Morelos. Amarillamiento foliar (A), enrollamiento (B) y mosaico de manchas rojizas (C).....	76
Figura 3.3 Plantas de jitomate con síntomas de virosis en Mazatepec, Morelos. Clorosis. (A), deformación de hojas (B), achaparramiento (C) y daño por trips en fruto (D).	77
Figura 3.4 Plantas de jitomate con síntomas de virosis en Axochiapan, Morelos. Mosaico (A), distorsión de hojas (B y C), enrollamiento de hojas y achaparramiento (D).	78
Figura 3.5 Plantas de jitomate con síntomas de virosis en Yecapixtla, Morelos. Manchas rojizas foliares (A), enrollamiento de hojas (B), mosaico y manchas cloróticas (C y D). ..	79
Figura 3.6 Productos de amplificación de PCR para detección de Begomovirus. Marcador de peso molecular Invitrogen® de 100 pb (M), testigo positivo (1 y 9), testigo negativo (2 y 10). Carriles 3,4 y 5: muestras de Axochiapan. Carriles 6,7 y 8: muestras de Mazatepec. Carriles 11, 12 y 13: muestras de Yautepec. Carriles 14, 15 y 16: muestras de Zacatepec.	80
Figura 3.7 Productos de amplificación de RT-PCR para detección de TSWV. Marcador de peso molecular Invitrogen® de 100 pb (M), testigo positivo (1 y 9), testigo negativo (2 y 10). Carriles 3,4 y 5: muestras de Axochiapan. Carriles 6, 7 y 8: muestras de Mazatepec. Carriles 11, 12 y 13: muestras de Yautepec. Carriles 14, 15 y 16: muestras de Zacatepec. La flecha en el carril 8 indica que esa muestra amplificó el tamaño de banda esperado.	81
Figura 3.8 Productos de amplificación de RT-PCR para detección de Potexvirus. Marcador de peso molecular Invitrogen® de 100 pb (M), testigo negativo (2 y 8). Carriles 2,3 y 4: muestras de Axochiapan. Carriles 5,6 y 7: muestras de Mazatepec. Carriles 9, 10 y 11: muestras de Yautepec. Carriles 12, 13 y 14: muestras de Zacatepec.	82

Figura 3.9 Producto de amplificación de RT-PCR para detección del TMV. Marcador de peso molecular Invitrogen® de 100 pb (M), testigo positivo (1 y 9), testigo negativo (2 y 10). Carriles 3,4 y 5: muestras de Axochiapan. Carriles 6,7 y 8: muestras de Mazatepec. Carriles 11, 12 y 13: muestras de Yautepec. Carriles 14, 15 y 16: muestras de Zacatepec. 83

CONTENIDO

RESUMEN	ii
ABSTRACT.....	iii
LISTA DE TABLAS.....	vi
LISTA DE CUADROS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
CAPÍTULO I. REVISIÓN DE LITERATURA.....	1
1.1 Importancia del cultivo.....	1
1.2 Importancia de los virus	3
<i>Cucumber mosaic virus (CMV)</i>	7
<i>Tomato spotted wilt virus (TSWV)</i>	8
<i>Alfalfa mosaic virus (AMV)</i>	9
<i>Tobacco ringspot virus (TRSV)</i>	9
<i>Tomato mottle virus (ToMoV)</i>	10
<i>Potato virus Y (PVY)</i>	10
<i>Chino tomato virus (CdTv)</i>	11
<i>Tobacco etch virus (TEV)</i>	12
<i>Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)</i>	12
<i>Tomato bushy stunt virus (TBSV)</i>	13
<i>Pepper huasteco yellow vein virus (PHYVV)</i>	14
<i>Tomato aspermy virus (TAV)</i>	14
<i>Pepper golden mosaic virus (PepGMV)</i>	15
<i>Tomato leaf curl Sinaloa virus (ToLCSinV)</i>	15
<i>Tomato severe leafcurl virus (ToSLCV)</i>	15
<i>Tomato chino La Paz virus (ToChLPV)</i>	16

<i>Tomato chlorosis virus</i> (ToCV)	16
<i>Tomato infectious chlorosis virus</i> (TICV)	16
<i>Tomato apex necrosis virus</i> (TANV)	17
<i>Pepino mosaic virus</i> (PepMV)	17
1.3 Identificación de virus	17
Plantas indicadoras	18
Técnicas serológicas	18
Técnicas moleculares	19
Microscopía electrónica	22
1.4 Manejo de virosis	22
Miel de abeja	23
Levadura de cerveza (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	24
Ácido acetil salicílico (AAS)	24
Acibenzolar S-metil (ASM)	25
Aplicaciones de micronutrientes	25
Extracto de clavo	26
LITERATURA CITADA	27
CAPÍTULO II. CONTROL ALTERNATIVO DE VIROSIS EN JITOMATE EN UN INVERNADERO COMERCIAL DE ZACATEPEC, MORELOS	41
RESUMEN	41
ABSTRACT	42
INTRODUCCIÓN	43
MATERIALES Y MÉTODOS	45
Localización del experimento	45
Diseño experimental	45
Tratamientos	45

Parámetros evaluados.....	47
Incidencia	47
Severidad.....	47
Altura de plantas	48
Rendimiento	48
Población de mosca blanca	48
Análisis estadístico.....	49
Análisis económico	49
RESULTADOS.....	50
Incidencia	50
Severidad.....	52
Altura de planta	55
Rendimiento	55
Población de mosca blanca	55
Análisis de correlación.....	57
Análisis económico	57
DISCUSIÓN	58
Incidencia	58
Severidad.....	59
Altura de plantas y rendimiento	61
Población de mosca blanca	62
Correlación de los parámetros evaluados.....	63
Análisis económico	63
CONCLUSIONES	64
LITERATURA CITADA.....	65

CAPÍTULO III. DISTRIBUCIÓN DE VIRUS ASOCIADOS AL CULTIVO DE JITOMATE EN CUATRO MUNICIPIOS DEL ESTADO DE MORELOS	69
RESUMEN	69
ABSTRACT.....	70
INTRODUCCIÓN	71
MATERIALES Y MÉTODOS	73
Zona de estudio	73
Muestreo.....	73
Extracción de ácidos nucleicos.	74
Identificación Molecular	74
<i>Begomovirus</i>	74
<i>Tomato spotted wilt virus</i>	74
<i>Potexvirus</i>	74
<i>Tobacco mosaic virus</i>	75
RESULTADOS.....	76
Muestreo.....	76
Identificación molecular.....	79
<i>Begomovirus</i>	79
<i>Tomato spotted wilt virus</i>	80
<i>Potexvirus</i>	81
<i>Tobacco mosaic virus</i>	82
DISCUSIÓN	83
CONCLUSIONES	86
LITERATURA CITADA.....	87

CAPÍTULO I. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 Importancia del cultivo

La producción de hortalizas es una actividad muy importante en la agricultura de México debido a la captación de divisas que la exportación de sus productos genera y por la cantidad de empleos que se obtienen por dicha actividad (Garzón, 1987).

Dentro de las hortalizas, el jitomate y el chile son los cultivos más importantes en el país por a la superficie sembrada, volumen de cosecha y valor de la producción (SAGARPA, 2011).

El jitomate (*Solanum lycopersicum*) tiene como centro de origen la región andina de lo que hoy es Chile, Bolivia, Ecuador, Perú y Colombia. México está considerado a nivel mundial como el centro de domesticación del jitomate, cuyo nombre deriva de la lengua Náhuatl “tomatl” (Rodríguez *et al.*, 1984).

A nivel mundial, China ocupa el primer lugar dentro de los principales productores de jitomate con más de 41 millones de toneladas, seguido de Estados Unidos, India y Egipto. México ocupa el décimo puesto con cerca de 3 millones de toneladas, y se ubica en el tercer lugar dentro de las especies de mayor importancia económica después de la caña de azúcar y maíz (FAO, 2010).

A nivel nacional, los principales estados con mayor superficie sembrada y producción total son Sinaloa, Baja California y Michoacán, mientras que Morelos ocupa el octavo lugar en superficie sembrada y el noveno en producción. En cuanto a rendimiento por hectárea, Querétaro ocupa el primer lugar, seguido de Guanajuato y Jalisco; Morelos se encuentra en el lugar 21 (Tabla 1).

Tabla 1. Estados productores de jitomate en México (SAGARPA, 2011).

Estado	Superficie sembrada (ha)	Producción total (t)	Rendimiento (t ha ⁻¹)
--------	--------------------------	----------------------	-----------------------------------

Sinaloa	15,399.18	345,011.10	44.9
Michoacán	4,882.50	148,080.85	30.45
Zacatecas	3,232.90	134,369.40	41.82
Baja California	2,775.14	162,324.92	60.13
Nayarit	2,773.00	59,777.11	21.56
Veracruz	2,313.75	54,381.50	23.5
Baja California Sur	2,299.00	92,882.72	44.22
Morelos	2,176.00	68,152.40	31.32
Jalisco	2,157.45	136,539.82	63.98
San Luis Potosí	2,115.00	108,613.50	52.34
Tamaulipas	1,947.50	64,812.50	33.88
Sonora	1,679.80	60,717.99	52.49
Chiapas	1,471.50	49,396.50	33.57
México	1,395.95	74,387.45	53.29
Guerrero	1,102.07	19,010.00	17.54
Coahuila	1,053.00	46,858.36	51.16
Oaxaca	858	52,401.59	61.07
Puebla	710.39	31,997.05	45.21
Guanajuato	691.68	47,638.25	68.87
Hidalgo	545.76	14,991.30	28.65

Aguascalientes	397	13,288.00	33.98
Nuevo León	354.39	20,618.49	58.19
Durango	330.25	13,623.50	41.25
Campeche	309	6,079.30	19.67
Colima	269	11,920.00	44.31
Chihuahua	175.7	6,708.52	38.18
Querétaro	152	24,622.39	173.58
Yucatán	146.53	1,935.67	13.36
Quintana Roo	36.24	914.51	25.24
Tabasco	24	278	11.58
Tlaxcala	5	104	20.8
Distrito federal	1.5	45	30

Fuente: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). SAGARPA, 2011.

En Morelos se siembran aproximadamente 2176 ha de jitomate, con una producción superior a 68 mil toneladas. Los principales municipios productores son Atlatlahuacán, Totolapan, Tlayacapan, Mazatepec y Yecapixtla (SAGARPA, 2010).

1.2 Importancia de los virus

Después de las enfermedades inducidas por hongos, las de origen viral son las más importantes en los sistemas agrícolas de producción en México, dado que pueden reducir hasta el 100 % de la calidad y producción de los cultivos, sobre todo cuando la planta es infectada en etapas tempranas de su desarrollo (Ley y García, 1998; Urias y Alejandre, 1999).

A nivel mundial, el cultivo de jitomate es afectado por más de 136 especies de virus (Hanssen *et al.*, 2010). A la fecha los virus *Cucumber mosaic virus*, *Tobacco mosaic virus*, *Tomato spotted wilt virus*, *Alfalfa mosaic virus*, *Tobacco ringspot virus*, *Tomato mottle virus*, *Potato virus Y*, *Chino tomato virus*, *Tobacco etch virus*, *Tomato yellow leaf curl virus*, *Impatiens necrotic spot virus*, *Tomato bushy stunt virus*, *Pepper huasteco yellow vein virus*, *Tomato aspermy virus*, *Pepper golden mosaic virus*, *Tomato leaf curl Sinaloa virus*, *Tomato Chino La Paz virus*, *Tomato chlorosis virus*, *Tomato infectious virus*, *Tomato ápex necrosis virus* y *Pepino mosaic virus* están distribuidos en diferentes estados de la República Mexicana (Tabla 2).

Tabla 2. Virus que afectan al cultivo de jitomate en México.

Nombre científico	Nombre común	Familia	Género	Distribución
CMV <i>Cucumber mosaic virus</i>	Virus mosaico del pepino	<i>Bromoviridae</i>	<i>Cucumovirus</i>	Amplia distribución (Robles <i>et al.</i> , 2010)
TMV <i>Tobacco mosaic virus</i>	Virus mosaico del tabaco	<i>Virgaviridae</i>	<i>Tobamovirus</i>	Amplia distribución (Rodríguez <i>et al.</i> , 1997)
TSWV <i>Tomato spotted wilt virus</i>	Virus de la marchitez manchada del tomate	<i>Bunyaviridae</i>	<i>Tospovirus</i>	Amplia distribución (De la Torre <i>et al.</i> , 2002)
AMV <i>Alfalfa mosaic virus</i>	Virus mosaico de la alfalfa	<i>Bromoviridae</i>	<i>Alfamovirus</i>	Amplia distribución (Robles <i>et al.</i> , 2010)
TRSV <i>Tobacco ring spot virus</i>	Virus de la mancha anular del tabaco	<i>Comoviridae</i>	<i>Nepovirus</i>	México, Puebla y Morelos (De la Torre <i>et al.</i> , 2002)
ToMoV <i>Tomato mottle virus</i>	Virus jaspeado del tomate	<i>Geminiviridae</i>	<i>Begomovirus</i>	Yucatán (Garrido and Gillbertson, 1998)

PVY <i>virus Y</i>	Potato	Virus Y de la papa	<i>Potyviriidae</i>	<i>Potyvirus</i>	Puebla, México, Coahuila y Nuevo León (Pérez y Rico, 2004).
CdTV <i>tomato virus</i>	Chino	Virus chino del tomate	<i>Geminiviridae</i>	<i>Begomovirus</i>	Sinaloa, Sonora, Chiapas, San Luis Potosí, Morelos, Jalisco, Tamaulipas y Guanajuato (Garzón et al., 2001; Gallegos, 1978; Torres et al. 1996)
TEV <i>etch virus</i>	Tobacco	Virus jaspeado del tabaco	<i>Potyviriidae</i>	<i>Potyvirus</i>	Morelos, Sinaloa y Yucatán (Ramírez et al., 2001; Robles et al., 2010)
TYLCV <i>yellow leaf curl virus</i>	Tomato	Virus del enrollamiento foliar amarillo del tomate	<i>Geminiviridae</i>	<i>Begomovirus</i>	Yucatán, Sinaloa, Baja California y San Luis Potosí (Ascencio et al., 1999; Díaz et al., 2003)
INSV <i>necrotic spot virus</i>	Impatiens	Virus de la mancha necrótica del Impatiens	<i>Bunyaviridae</i>	<i>Tospovirus</i>	Morelos (Ramírez et al., 2001)
TBSV <i>bushy stunt virus</i>	Tomato	Virus del enanismo arbustivo del tomate	<i>Tombusviridae</i>	<i>Tombusvirus</i>	Hidalgo (Martínez et al., 1974)
PHYYV <i>huasteco yellow vein virus</i>	Pepper	Virus huasteco de la vena amarilla del chile	<i>Geminiviridae</i>	<i>Begomovirus</i>	Morelos, Tamaulipas, Sinaloa, Guanajuato, Jalisco, San Luis Potosí, Sonora y Quintana Roo (Garzón et al., 1993; Brown and Poulos,

						1990; Garzón <i>et al.</i> , 2001)
TAV	Tomato	Virus aspermia del tomate	<i>Bromoviridae</i>	<i>Cucumovirus</i>		Morelos (Ramírez <i>et al.</i> , 2009)
aspermy virus						
PepGMV		Virus mosaico dorado del chile	<i>Geminiviridae</i>	<i>Begomovirus</i>		Sinaloa, Tamaulipas, Morelos, Guanajuato, Jalisco, San Luis Potosí, Baja California Sur y Sonora (Garzón <i>et al.</i> , 2001; Brown and Poulos, 1990; Holguín <i>et al.</i> , 2003)
Pepper golden mosaic virus						
ToLCSinV		Virus del enchinamiento	<i>Geminiviridae</i>	<i>Begomovirus</i>		Sinaloa (Brown <i>et al.</i> , 1993)
Tomato leaf curl Sinaloa virus		Sinaloa del tomate				
ToSLCV		Virus del enchinamiento severo de la hoja del tomate	<i>Geminiviridae</i>	<i>Begomovirus</i>		San Luis Potosí, Morelos y Baja California (Holguín <i>et al.</i> , 2004; Mauricio <i>et al.</i> , 2006)
Tomato severe leafcurl virus						
ToChLPV		Virus chino La Paz del tomate	<i>Geminiviridae</i>	<i>Begomovirus</i>		Baja California Sur (Holguín <i>et al.</i> , 2010)
Tomato Chino La Paz virus						
ToCV	Tomato	Virus clorosis del tomate	<i>Closteroviridae</i>	<i>Crinivirus</i>		Sinaloa (Álvarez <i>et al.</i> , 2006)
chlorosis virus						
TICV	Tomato	Virus de la clorosis infecciosa del tomate	<i>Closteroviridae</i>	<i>Crinivirus</i>		Baja California (Méndez <i>et al.</i> , 2012)
infectious chlorosis virus						

TANV	Tomato	Virus de la	<i>Secoviridae</i>	<i>Torradovirus</i>	Sinaloa y Sonora (Turina <i>et al.</i> , 2007)
ápex	necrosis	necrosis apical			
virus		del tomate			
PepMV	Pepino	Virus mosaico	<i>Alphaflexiviridae</i>	<i>Potexvirus</i>	Estado de México (Ling and Zhang, 2011)
mosaic virus		del pepino			

Cucumber mosaic virus (CMV)

El virus mosaico del pepino (CMV) pertenece a la familia *Bromoviridae* y al género *Cucumovirus*. Son partículas poliédricas de 30 nm que están compuestas por 180 subunidades morfológicas (12 pentámeros y 20 hexámeros) que dan lugar a la cubierta proteica. Su genoma está compuesto de ARN monocatenario (Conti *et al.*, 2000).

Este virus tiene una gran cantidad de hospederos naturales y es capaz de infectar hasta 1,092 especies (Edwardson y Christie, 1997). Más de 60 especies de áfidos, incluyendo *Myzus persicae* y *Aphis gossypii*, son capaces de transmitirlo de forma no persistente en cualquier estado de desarrollo. El jitomate no es un hospedero común de los áfidos, estos insectos normalmente colonizan al pepino, melón y sandía (Jones y Paul, 1991).

El CMV se puede transmitir mecánicamente durante la realización de las labores culturales a través de la savia impregnada sobre las manos y ropa del personal, pero no se transmite por semilla (Mota, 1991).

El CMV produce típicamente moteado o manchado y deformación de hojas, flores y frutos. Las hojas se arrugan y se enrollan hacia el envés. Las plantas infectadas pueden quedar achaparradas en grado considerable debido a que los entrenudos y peciolos del tallo se acortan y las hojas se desarrollan hasta la mitad de su tamaño natural (Agrios, 2008).

Tobacco mosaic virus (TMV)

El virus mosaico del tabaco, perteneciente a la familia *Virgaviridae* y al género *Tobamovirus*, representa uno de los virus fitopatógenos que más se ha estudiado. Los

viriones son tubulares, rígidos, de unos 300 x 18 nm de diámetro. El genoma está compuesto por una molécula de ARN monocatenario de polaridad positiva constituida por 6395 nucleótidos (Conti *et al.*, 2000).

El TMV se transmite mecánicamente, por semilla, suelo o por contacto entre órganos de plantas infectadas. También se puede transmitir por el hombre al manipular plantas enfermas y sanas (Cárdenas, 1999).

Este virus está ampliamente distribuido en todas las regiones productoras de jitomate de México. Se reportó desde 1974 en el sur de Tamaulipas, el Bajío, Sinaloa y en Morelos (Delgado, 1974; Ramírez *et al.*, 2001).

En jitomate, el TMV puede causar mosaico verde oscuro, verde claro o amarillamiento en las hojas superiores. Asimismo, provoca enchinamiento, curvatura o acampanado de las hojas y, en condiciones especiales, necrosis interna de los frutos (Rodríguez *et al.*, 1997).

Tomato spotted wilt virus (TSWV)

El virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV) pertenece a la familia *Bunyaviridae* y al género *Tospovirus*. Las partículas son esféricas y revestidas por una membrana lipoproteica, y su genoma está constituido por 3 moléculas lineales de ARN (Conti *et al.*, 2000). En jitomate se han observado inclusiones citoplásmicas amorfas y esféricas muy cerca del núcleo. El virus también induce inclusiones vacuoladas grandes (Pérez *et al.*, 2004).

El TSWV se transmite por algunas especies de trips como *Frankliniella occidentalis*, *F. fusca* y *Thrips tabaci*. La transmisión es persistente, circulativa y replicativa. Las partículas virales son ingeridas por el insecto vector, pasan por el aparato digestivo a diversos órganos y células, principalmente a las glándulas salivales, donde se multiplican y son inoculadas cuando el insecto se alimenta. El genoma del virus está constituido por ARN (Rosello y Nuez, 1977).

Las hojas jóvenes de plantas infectadas son de color bronceado y desarrollan numerosas y pequeñas manchas oscuras; los puntos de crecimiento se necrosan. Las plantas pueden presentar achaparramiento y defoliación, y si la infección ocurre al inicio del ciclo no hay producción de frutos. Cuando la infección ocurre tardíamente, los frutos verdes muestran anillos pálidos concéntricos generalmente elevados, y en los frutos maduros los anillos concéntricos se hacen evidentes ocasionando una coloración alternante de rojo y amarillo, y frecuentemente no poseen sabor (Conti *et al.*, 2000; Nuez, 2001).

Este virus se reportó por primera vez en el estado de Sinaloa (Verdugo, 1989) y se ha encontrado asociado con el TMV y CMV en tomate de cáscara y chile en el estado de Morelos (De la Torre *et al.*, 2007).

Alfalfa mosaic virus (AMV)

El virus mosaico de la alfalfa pertenece a la familia *Bromoviridae* y al género *Alfamovirus*, posee partículas baciliformes, su genoma está constituido por cuatro segmentos de ARN monocatenario de sentido positivo (Conti *et al.*, 2000).

El AMV se transmite por polen, injerto, semilla y mecánicamente. Existen al menos 14 especies de áfidos que pueden transmitirlo de forma no persistente, siendo *M. persicae* la más eficiente. Además del jitomate, el AMV infecta a una gran cantidad de especies cultivadas y malezas (Stevenson, 1991; Nuez, 2001).

El virus en general induce la aparición de mosaicos, moteado amarillo brillante, deformación de la lámina foliar y, en infecciones tempranas, marcada disminución del tamaño de la planta por acortamiento de entrenudos. En infecciones tempranas puede causar disminución del rendimiento hasta del 10 % en el estado de Morelos (Ramírez *et al.*, 2001).

Tobacco ringspot virus (TRSV)

El virus de la mancha anular del tabaco pertenece a la familia *Comoviridae* y al género *Nepovirus*, es de forma isodiamétrica de contornos angulares y diámetro de 30 nm. Algunas partículas pueden (componentes M y B) o no (componente T) presentar glucoproteínas.

La subunidad proteica es de un solo tipo con un peso molecular de 55-60 kDA (Conti *et al.*, 2000). Este virus se transmite principalmente por *Xiphinema americanum* (Fulton, 1962), aunque también puede transmitirse por insectos y ácaros, tales como *A. gossypii*, *M. persicae*, *Melanopus* sp., *Epitrix hirtipennis*, *Thrips tabaci* y *Tetranychus* sp. (Fromme *et al.*, 1927).

El virus tiene su origen en el centro y este de Norte América, aunque se ha reportado en Canadá, Cuba, República Dominicana, Inglaterra, Bélgica, China y Japón, entre otros, la mayoría de los cuales están probablemente relacionados con material exportado de su zona de origen (EPPO/CABI, 1996).

El TRSV ocasiona típicamente enrollamiento y necrosis de los puntos de crecimiento, mientras que en la base de las hojas jóvenes induce una coloración marrón muy definida con anillos necróticos y líneas sinuosas. Los peciolos se necrosan y en el tejido del tallo adyacente se nota a menudo un rayado y anillo necrótico. Los frutos en formación muestran una evidente acumulación corchosa de color gris a marrón y anillos superficiales frecuentemente concéntricos (Smith, 1972).

Tomato mottle virus (ToMoV)

Este virus pertenece a la familia *Geminiviridae* y al género *Begomovirus*, presenta una nucleocápside de 18 nm de diámetro y 30 nm de largo; se transmite por *Bemisia tabaci* y a la fecha no hay evidencia de que se transmita de manera mecánica ni por semilla. El genoma está conformado por ADN bipartita (Kring *et al.*, 1991; Polston *et al.*, 1996).

El ToMoV induce moteado clorótico, deformación foliar y reducción del crecimiento. En México se reportó por primera vez en el estado de Yucatán (Garrido y Gilbertson, 1998).

Potato virus Y (PVY)

El virus Y de la papa pertenece a la familia *Potyviridae* y al género *Potyvirus*, posee partículas flexibles de 730 nm de longitud y 11 nm de diámetro. El genoma del virus es de

ARN y está constituido por 9,700 nucleótidos. De acuerdo con la severidad de síntomas que induce en tabaco, papa y otros hospederos pueden distinguirse muchas variantes, de las cuales las más importantes son PVY⁰, PVYⁿ y PVY^c (Conti *et al.*, 2000; Pérez *et al.*, 2004).

El PVY se transmite mecánicamente y por áfidos de forma no persistente. También se ha reportado que *Tetranychus urticae* puede transmitirlo (Rodríguez *et al.*, 1984; Jones, 1991).

En las hojas, el virus induce áreas de color marrón oscuro que se acentúan en hojas maduras; se presenta coloración amarilla a lo largo de las venas y las hojas terminales se necrosan; en los tallos el PVY induce un rayado púrpura (Uexkull, 1978). Se ha reportado al virus en los estados de Puebla, México, Coahuila y Nuevo León.

Además del jitomate, el PVY infecta papa, chile y tabaco. En papa es considerado uno de los virus más dañinos (Pérez y Rico, 2004).

Chino tomato virus (CdTv)

El virus chino del jitomate pertenece a la familia *Geminiviridae* y al género *Begomovirus*; su genoma está compuesto por ADN bipartita. No se transmite por inoculación mecánica, semilla, ni por contacto entre plantas, pero sí por injerto o por *B. tabaci* de manera persistente-circulativa no propagativa (Tun, 1994).

En 1970, se observaron síntomas causados por este virus en jitomate en los estados de Sinaloa y Sonora (Gallegos, 1978). De 1970 a 1983 causó epidemias y desde 1988 se tiene de manera permanente asociado con altas poblaciones de *B. tabaci* (Brown y Nelson 1988). En la década de los 90s se presentó una nueva epidemia en los estados de Chiapas, Morelos, Sinaloa y Tamaulipas que se relacionó con la aparición del biotipo B de *B. tabaci*. (Torres *et al.* 1996). En Sinaloa, el virus también puede encontrarse en plantaciones de chile. Este patógeno está presente en todas las áreas productoras de jitomate en México debido posiblemente al traslado de semilleros desde Sinaloa a otras áreas productoras (Polston y Anderson, 1999).

El CdTV induce amarillamiento de nervaduras y mosaico foliar. Puede también ocasionar proliferación de brotes y engrosamiento de las nervaduras foliares (Torres *et al.*, 1996).

Tobacco etch virus (TEV)

El virus jaspeado del tabaco pertenece al género *Potyvirus*. Las partículas son alargadas y flexibles de 730 x 12 nm de diámetro y su genoma es de ARN monocatenario de sentido positivo (Stevenson, 1991). No hay reportes de su transmisión por semilla, pero puede ser transmitido de forma no persistente a más de 150 plantas por diferentes especies de áfidos (Edwardson y Christie, 1997; Stevenson, 1991). La enfermedad causada por este virus aparece esporádicamente en el estado de Morelos. En plantas de chile causa daños más severos que en jitomate (Ramírez *et al.*, 2001).

Los síntomas inducidos por el virus aparecen como un moteado y rugosidad de las hojas, además de un pronunciado enchinamiento hacia el envés. En plantas infectadas en etapas tempranas se acortan los entrenudos y pueden quedar severamente atrofiadas. El fruto presenta moteado y no alcanza el tamaño comercial. Hay una alta correlación entre la edad en que la planta es infectada y el número y tamaño de los frutos producidos; mientras más temprana es la infección menor es la cantidad y calidad de los frutos (Stevenson, 1991; Uexkull, 1978).

Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)

El TYLCV pertenece a la familia *Geminiviridae* y al género *Begomovirus*; su genoma está constituido de ADN y las partículas virales son geminadas, las cuales están compuestas por 110 subunidades proteicas (componentes A y B) (Conti *et al.*, 2000).

El TYLCV y los geminivirus con genoma bipartita se transmiten de manera persistente circulativa por el biotipo B de *B. tabaci*, también conocido como *B. argentifolii* (Perring *et al.*, 1993). Aunque existe controversia con respecto a la taxonomía del vector, diferentes biotipos o especies de mosca blanca tienen muy poca o ninguna especificidad para la transmisión de diferentes geminivirus (Bedford *et al.*, 1994).

La infección de las plantas en etapas tempranas de desarrollo induce pérdida notable de vigor y falta de fructificación; mientras que en infecciones tardías se produce el cuajado de nuevos frutos y los ya presentes alcanzan la maduración, aunque con un tamaño inferior a lo normal y de coloración pálida. Adicionalmente, hay un abarquillamiento y redondeo en forma de cuchara de los folíolos de las hojas, reducción de los nuevos folíolos con clorosis marginal, engrosamiento y deformación intervenal, y pecíolos en forma helicoidal (Conti *et al.*, 2000).

Impatiens necrotic spot virus (INSV)

El INSV pertenece a la familia *Bunyaviridae* y al género *Tospovirus*. Su genoma es de ARN monocatenario, es de forma esférica y está envuelto por una membrana lipoproteica. La forma de transmisión es por material propagativo y por trips (*F. occidentalis*, *F. schultzei* y *F. fusca*) de forma persistente (Pozzer *et al.*, 1996; Astier *et al.*, 2006; Robert, 2009).

Este virus también está reportado en el cultivo de chile y en una gran diversidad de especies ornamentales (Goldbach y Kuo, 1996; Robles *et al.*, 2010). El INSV se detectó con una incidencia de 33 % en los principales municipios productores de jitomate en el estado de Morelos (Atlatlahuacán, Totolapan, Zacatepec, Jojutla y Tlaquiltenango) (Ramírez *et al.*, 2001).

Los síntomas consisten en distorsión y necrosis foliar, frutos con anillos necróticos y en casos extremos la planta puede llegar a marchitarse completamente (Robert, 2009).

Tomato bushy stunt virus (TBSV)

El virus enanismo arbustivo del tomate es el miembro tipo de la familia *Tombusviridae* y pertenece al género *Tombusvirus*. Este virus tiene una amplia gama de hospedantes, posee partículas icosaédricas de aproximadamente 30 nm de diámetro y genoma monopartita de ARN (Conti *et al.*, 2000). Se reportó por primera vez en un invernadero de jitomate en Irlanda en 1935 (Obermeier *et al.*, 2001) y en México se detectó en 1965 causando la enfermedad llamada “pinto del jitomate” (Martínez *et al.*, 1974).

En hojas de jitomate ocasiona clorosis, deformación, moteado y necrosis. Induce el aborto y necrosis de las estructuras florales, además de manchas amarillas y necrosis de frutos (Wisler, 2000).

Pepper huasteco yellow vein virus (PHYVV)

El virus de la vena amarilla del chile huasteco pertenece a la familia *Geminiviridae* y al género *Begomovirus*; su genoma es de ADN bipartita (componentes A y B) y se transmite por *B. tabaci* (Garzón *et al.*, 1993).

En México, el primer reporte de este virus fue en el cultivo de chile en la región Huasteca de Tamaulipas, aunque también se ha reportado en los estados de Sinaloa, Guanajuato y Quintana Roo (Garzón *et al.*, 1993). La sintomatología se caracteriza por un moteado clorótico, enrollamiento y distorsión de las hojas (Guevara *et al.*, 1999).

Tomato aspermy virus (TAV)

El virus aspermia del tomate pertenece a la familia *Bromoviridae* (Conti *et al.*, 2000), posee partículas isométricas de 30 nm de diámetro, redondeadas o angulares y sin un arreglo conspicuo de capsómeros. Su genoma está compuesto por ADN bipartita. Originalmente este virus se conoció como *Chrysanthemum aspermy virus* (Hollings y Stone, 1971).

El TAV es un serotipo del género *Cucumovirus*, del cual algunos aislamientos difieren substancialmente dependiendo de la gama de hospedantes, virulencia, severidad, transmisión y relaciones serológicas (Sutic *et al.*, 1999).

Se transmite de forma no persistente por áfidos como *Macrosiphoniella sanborni*, *M. pesicae* y *M. solani*, siendo esta última especie la única que lo transmite de crisantemo y también la especie más eficiente en transmitirlo a tabaco y jitomate. Además, puede transmitirse por inoculación mecánica, por injerto y por semilla (Nordaam *et al.*, 1965).

Puede causar manchas cloróticas en hojas, aclaramiento sistémico de nervaduras, moteado, distorsión, achaparramiento, y en infecciones severas el síntoma de agujeta (Hollings y Stone, 1971).

Pepper golden mosaic virus (PepGMV)

El virus mosaico dorado del chile pertenece la familia *Geminiviridae* y al género *Begomovirus*. Su genoma está compuesto de ADN bipartita (componentes A y B), y su principal forma de transmisión es a través de *B. tabaci* (Rivera y Silva, 1997).

Este patógeno se caracteriza por inducir un mosaico dorado que empieza con el amarillamiento de las nervaduras basales y distorsión de las hojas; en ocasiones puede haber un mosaico verde alternado con amarillo. Las plantas presentan achaparramiento, aborto de flores y deformación de frutos (Holguín *et al.*, 2003)

El PepGMV se detectó por primera vez en Texas y se le nombró como *Texas pepper geminivirus* (TPGM) (Stenger *et al.*, 1990). Este patógeno se encuentra distribuido ampliamente en México, por lo que no es raro que se detecte en otras solanáceas como chile y tabaco (Torres *et al.*, 1996). Otras variantes de este virus se han encontrado en Sinaloa, Tamaulipas y Baja California Sur (Holguín *et al.*, 2003)

Tomato leaf curl Sinaloa virus (ToLCSinV)

Este virus se reportó por primera vez en 1989 infectando jitomate, tabaco y chile en el estado de Sinaloa (Brown *et al.*, 1993). Se nombró tentativamente como el *Sinaloa tomato leaf curl virus* (STLCV) (Idris and Brown, 1998); a la fecha se le reconoce como una nueva especie denominada *Tomato leaf curl Sinaloa virus* (Fauquet *et al.*, 2005). La transmisión del virus es a través de *B. tabaci* y *B. argentifolii* (Holguín *et al.*, 2003). En jitomate induce rizado amarillo, distorsión foliar, mosaico amarillo, clorosis intervenal y reducción del tamaño de frutos (Idris and Brown, 1998).

Tomato severe leafcurl virus (ToSLCV)

Este virus tiene su origen en Centroamérica en los países de Honduras, Guatemala y Nicaragua (Ala-Poikela *et al.*, 2005). En México se reportó por primera vez infectando plantas de jitomate en los estados de San Luis Potosí y Morelos. Se trasmite por mosquita blanca (*B. tabaci* y *B. argentifolii*), en donde existe una alta especificidad debido al

reducido rango de hospedantes. Este virus induce retraso en el crecimiento, deformación y arrugamiento de las hojas (enclinamiento) (Mauricio *et al.*, 2006).

Tomato chino La Paz virus (ToChLPV)

El ToChLPV se reportó por vez primera en Baja California Sur, México (Holguín *et al.*, 2005) Hasta el momento se ha asociado con altas poblaciones de *B. tabaci*, *B. argentifolii* y *Trialeurodes vaporariorum*, lo que sugiere que estos insectos son los vectores del patógeno (Holguín *et al.*, 2010). En plantas infectadas se observa retraso en el crecimiento, reducción del tamaño y deformación de las hojas (Holguín *et al.*, 2006).

Tomato chlorosis virus (ToCV)

El virus se identificó en 1996 en invernaderos de jitomate en Florida, E.U. (Wisler *et al.*, 1998), en 2006 se reportó en México en la zona de Guasave, Ahome y Culiacán en el estado de Sinaloa (Álvarez *et al.*, 2006). Las especies de mosca blanca como *B. tabaci*, *B. argentifolii*, *Trialeurodes vaporariorum* y *T. abutilonea* pueden transmitir el virus (Duffus *et al.*, 1996). El patógeno induce manchas cloróticas irregulares que se desarrollan primero en las hojas inferiores, avanzan gradualmente hacia el punto de crecimiento y en ocasiones se observan manchas necróticas en las hojas (Wintermantel and Wisler, 2006).

Tomato infectious chlorosis virus (TICV)

El virus se reportó por primera vez en San Diego, California en la década de los 90 (Duffus *et al.*, 1994). En 2012, este virus se encontró infectando plantas de jitomate en Ensenada, Baja California (Méndez *et al.*, 2012). El TICV es transmitido en invernaderos por *T. vaporariorum* de forma semipersistente (Wisler *et al.*, 1998). En plantas de jitomate induce manchas cloróticas irregulares, manchas necróticas y hojas quebradizas, pero en ocasiones se puede confundir este virus con el ToCV debido a la similitud que existe entre los síntomas que ocasionan (Wisler *et al.*, 1996).

Tomato apex necrosis virus (TANV)

El TANV se describió por primera vez en el área de Culiacán, Sinaloa, posteriormente se ha encontrado en la región sur de Sonora (Turina *et al.*, 2007). El virus se asoció con altas poblaciones de mosca blanca y, en estudios posteriores, se encontró que este virus se transmite por distintas especies como *B. tabaci*, *B. argentifolii*, *T. vaporariorum* y *T. abutilonea* (Amari *et al.*, 2008). Los síntomas que induce en el cultivo de jitomate son necrosis apical y manchado anular de los frutos, los cuales son similares a los ocasionados por el TSWV, por lo que es necesario realizar pruebas serológicas o moleculares para su identificación (Turina *et al.*, 2007).

Pepino mosaic virus (PepMV)

El PepMV se reportó por primera vez en 1980 en el cultivo de pepino (*Solanum muricatum*) en Perú (Jones *et al.*, 1980), y para el 2008 se encontró en las principales áreas productoras de jitomate de Europa y Norteamérica (Kai-Shu *et al.*, 2008). En México, el virus se reportó por primera vez en invernaderos de Jocotitlán, Estado de México (Ling and Zhang, 2011). Se transmite de forma mecánica, por semilla y por abejorros (*Bombus terrestris* y *B. canariensis*), los cuales son utilizados para la polinización en invernaderos (Van der Vlugt, 2009). Además, infecta malezas como *Taraxacum* sp., *Plantago* sp., *Chenopodium* sp., *Brassica* sp., *Convolvulus* sp., *Bidens* sp., *Euphorbia* sp., *Amaranthus* sp., y *Malva* sp. (Jones *et al.*, 1980). El PepMV induce mosaicos verdes o amarillos, manchas amarillas que comienzan en el centro del foliolo y se extienden hacia los ápices, filimorfismo, enchinamiento de hojas y manchas en frutos (Jordá *et al.*, 2001).

1.3 Identificación de virus

Dentro de los criterios para la identificación de virus se encuentran la caracterización de síntomas que inducen en el hospedante, la inoculación de plantas indicadoras, pruebas serológicas y de biología molecular y la microscopía electrónica (Pérez *et al.*, 2004).

La identificación de los virus por sintomatología no es completamente confiable debido a que dichos síntomas se pueden confundir con desórdenes nutrimentales o por daños causados por herbicidas u otros patógenos. Las técnicas más eficientes y confiables son las serológicas como ELISA y las de biología molecular como PCR y RT-PCR (Robles *et al.*, 2010).

Plantas indicadoras

Algunas especies vegetales, tales como tabaco (*Nicotiana tabaco*) y quinoa (*Chenopodium quinoa*) son hospedantes de un gran número de virus. Debido a que estas plantas tienen respuestas consistentes y distintivas a las infecciones virales bajo condiciones controladas, es común usarlas como plantas indicadoras (Walkey 1991). Las principales respuestas son lesiones localizadas, las cuales quedan confinadas a las hojas inoculadas (hospedantes de lesiones localizadas), y las infecciones sistémicas, en donde los síntomas se presentan en hojas distantes del sitio de inoculación (hospedantes sistémicos). Muchos de los virus vegetales son transmisibles a plantas indicadoras de manera mecánica o por injertos (Valenzuela *et al.*, 2003).

Técnicas serológicas

El ensayo inmunoabsorbente ligado a una enzima (ELISA), es una técnica muy confiable y rápida que permite detectar la presencia de patógenos importantes en especies o variedades de plantas que sean tolerantes o resistentes, aún cuando no muestran síntomas (Lorenzen *et al.*, 2006). La optimización y automatización de esta técnica también se ha convertido en una valiosa herramienta de detección y diagnóstico de enfermedades causadas por virus (Clark y Adams, 1977). La importancia del uso de ELISA radica en su sensibilidad. Variantes de uso común de esta técnica son la ELISA indirecta, directa y DAS-ELISA.

ELISA indirecta. La especificidad de esta prueba depende del antígeno colocado en la fase sólida, el cual puede ser de alta pureza y bastante caracterizado, o relativamente crudo y no caracterizado (Roitt *et al.*, 2003). Consiste en la adsorción del antígeno a una placa de poliestireno seguida de la adición del anticuerpo específico, el cual reacciona con el

antígeno adherido a la placa. Enseguida se agrega el anticuerpo secundario ligado a una enzima. Una vez formada la secuencia biológica de antígeno más anticuerpo, más anticuerpo secundario ligado a un enzima, se adiciona el sustrato, el cual es hidrolizado por la enzima dando lugar a un cambio de color de la solución, lo que permite determinar los resultados visualmente y cuantificarlos espectrofotométricamente por medio de un lector de microplacas (Providencia y Fernández, 2004).

ELISA directa. Esta variante consiste en la adsorción de anticuerpos específicos a una placa de poliestireno seguida de la adición de los antígenos, los cuales reaccionan con los anticuerpos adheridos previamente a la placa. Enseguida se agregan anticuerpos ligados con enzimas que se adhieren a los patógenos capturados en la placa. Una vez formada la secuencia biológica anticuerpo-antígeno, más anticuerpo-enzima, se adiciona el sustrato, el cual es hidrolizado por la enzima dando lugar a una reacción colorida, lo que permite determinar los resultados visualmente y cuantificarlos de manera similar a cuando se hace una ELISA indirecta. Una desventaja de esta estrategia es que puede generar un diagnóstico erróneo debido a que los antígenos raramente están marcados y por ello pueden ser sobre o subestimados (Roitt *et al.*, 2003).

DAS-ELISA. Esta técnica indirecta consiste en la adsorción de anticuerpos específicos a una placa de poliestireno seguida de la adición de los antígenos, los cuales reaccionan con los anticuerpos adheridos a la placa. Para formar el sándwich se agregan nuevamente anticuerpos ligados con enzimas que se adhieren a los antígenos capturados en la placa (Cruz y Frías, 1997).

Técnicas moleculares

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Con la técnica de PCR se obtiene un gran número de copias a partir de un fragmento de ADN. Esta técnica se emplea para la identificación de virus, bacterias, hongos, insectos, entre otros organismos, y se fundamenta en la propiedad que tienen las ADN polimerasas para replicar hebras de ADN. La técnica consiste en ciclos de altas y bajas temperaturas alternadas para separar las hebras de ADN,

permitir la unión de los iniciadores y sintetizar las moléculas complementarias para que vuelvan a duplicarse. El proceso de PCR está automatizado en un termociclador que permite calentar y enfriar los tubos de reacción para cada etapa (Klug y Cummins, 1999; Lorenzen *et al.*, 2006).

Los componentes de reacción para esta técnica son los desoxinucleótidos trifosfatados (dNTP's), dos oligos complementarios a una de los dos hebras de ADN (secuencias cortas de aproximadamente 42 nucleótidos que son reconocidos por la polimerasa permitiendo iniciar la reacción), iones divalentes de magnesio como $MgCl_2$ o monovalentes como el potasio, una solución amortiguadora que mantiene el pH en rangos adecuados para el funcionamiento óptimo de la reacción, Taq polimerasa, el fragmento de ADN que se va a amplificar y el termociclador (Walker y Gingold, 1997; Campbell y Farrel, 2003).

La PCR básicamente consiste de tres etapas. En la etapa de desnaturalización se separan las hebras del fragmento de ADN. Este paso requiere incrementar la temperatura a $95^{\circ}C$; sin embargo, este valor depende de la proporción G+C y del largo de la cadena de ADN. En la etapa de alineamiento, los iniciadores se unen a una secuencia complementaria en el ADN molde. Para ello es necesario bajar la temperatura a $50-70^{\circ}C$ durante 20-40 segundos, permitiendo así el alineamiento ya que los puentes hidrógeno estables dentro de la cadena de ADN solo se forman cuando la secuencia de los iniciadores es muy similar a la secuencia del ADN molde. Los iniciadores actuarán como límite de la región de la molécula que va a amplificar (Nelson y Cox, 2006).

En la etapa de elongación, la ADN polimerasa toma como molde el fragmento de ADN para sintetizar la cadena complementaria, partiendo del iniciador para la síntesis del nuevo ADN. La polimerasa va añadiendo los dNTP's complementarios en dirección $5'-3'$, uniendo el grupo 5'fosfato de los dNTP's con el grupo 3'-hidroxilo de la hebra de ADN creciente. La temperatura y el tiempo para esta etapa depende de la ADN polimerasa empleada y del tamaño del fragmento a amplificar, aunque comúnmente la temperatura es de $72^{\circ}C$ (Campbell y Farrel, 2003).

Para asegurar que el ADN de cadena simple sea totalmente amplificado, se establece un ciclo a 74⁰C durante 5-15 minutos. Finalmente, el ADN amplificado se mantiene a 4-15⁰C durante un tiempo indefinido para conservar el producto de la reacción a corto plazo (Nelson y Cox, 2006).

Para verificar que durante la PCR se generaron los fragmentos del ADN deseado, se emplean técnicas de electroforesis que separan los fragmentos de ADN sintetizados de acuerdo a su carga, longitud y tamaño. La electroforesis se realiza en geles de agarosa para fragmentos grandes y en acrilamida para fragmentos pequeños (Walker y Gingold, 1997; Campbell y Farrel, 2003).

Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa (RT-PCR). Es una técnica que en biología molecular se utiliza ampliamente para identificar virus con genoma de ARN. Para su aplicación se necesita la transcriptasa reversa para convertir el ARN en ADN complementario, proceso por el cual es posible obtener millones de copias de ARN en pocas horas. La transcriptasa reversa es una ADN polimerasa dependiente del ARN que sintetiza ADN complementario de cadena sencilla utilizando como molde ARN monocatenario. Una forma sencilla de sintetizar ADN complementario de cadena sencilla por medio de la transcriptasa reversa es a partir de un oligo poli-T que establece bases complementarias con la cola poli-A del ARN del genoma de muchos virus. Este híbrido ADN-ARN puede separarse mediante ribonucleasas y con la acción de una ADN-polimerasa y un nuevo oligo se completa la doble hebra de ADN.

Los retrovirus contienen una transcriptasa reversa. Durante la infección, el genoma de ARN y la enzima penetran en la célula del hospedero. Esta última cataliza la síntesis de una cadena de ADN complementario del ARN vírico. A continuación degrada la cadena del híbrido ADN-ARN vírico y lo reemplaza por ARN. La integración es catalizada por una integrasa codificada por el virus. La transcriptasa inversa requiere un oligo para iniciar la síntesis de ADN. El oligo es un tARN incluido dentro de la partícula vírica obtenido durante una infección anterior. Este tARN se une a un extremo 3' con una secuencia

complementaria de ARN vírico. La nueva cadena de ADN se sintetiza en una dirección 5' 3' como en todas las reacciones de las ARN y ADN polimerasas (Nelson y Cox, 2006).

Microscopía electrónica

La microscopia electrónica es importante para la caracterización de los virus de las plantas y constituye una herramienta complementaria para su identificación. La microscopia electrónica permite detectar numerosos casos de infecciones virales mixtas y conocer la importancia del estudio de la citología en las infecciones virales (Roberts, 1986).

1.4 Manejo de virosis

En la práctica es imposible sanar aquellas plantas infectadas por virus, por lo que la lucha contra estos patógenos tiene un carácter esencialmente preventivo, debido a que en la actualidad no existen agroquímicos que tengan un efecto curativo o eliminen al virus sin dañar a la planta (Messiaen, 1995).

El manejo de una enfermedad viral es más difícil cuando el virus es transmitido por vectores; es por eso que el conocimiento del vector (dispersión temporal, patrón de migración y hábitos alimenticios, principalmente), del virus, de la planta hospedera y del efecto de las condiciones ambientales sobre la interacción de estos componentes son esenciales para determinar las estrategias de control más apropiadas.

Para combatir una enfermedad, la mayoría de las veces es necesaria la combinación de muchas medidas de control, las cuales, en conjunto, son referidas como manejo integrado (Rodríguez, 1992; Chellemi *et al.*, 1994).

El principal método de manejo de enfermedades en los cultivos ha sido el control químico; sin embargo, los problemas de contaminación ambiental derivados de su uso han impactado negativamente en la biodiversidad de los agroecosistemas, además de generar riesgos de seguridad y salud pública (Zavaleta, 1999), por lo que surge la necesidad de usar y aplicar alternativas ecológicas.

Miel de abeja

Bajo condiciones de campo, se ha observado que plantas de tomate de cáscara y calabacita tratadas con miel de abeja muestran mejor desarrollo y menos daños inducidos por plagas, particularmente hongos y virus (Aquino, 2005).

Al realizar aplicaciones de miel de abeja sobre plantas de jitomate inoculadas con el TSWV, se observó que a los 15, 30 y 50 días después de la inoculación la miel no tuvo efecto sobre la movilidad del virus, pero disminuyó su concentración en la última fecha de evaluación (Ramírez *et al.*, 2006).

Ruvalcaba (2008), reportó que plantas de calabacita inoculadas con el *Cucumber mosaic virus* (CMV) y asperjadas con miel de abeja al 1 % tuvieron mayor peso de biomasa fresca y resultaron negativas al virus en la prueba DAS-ELISA.

De acuerdo con Enríquez (2000), plantas que jitomate recién germinadas y asperjadas con miel de abeja al 2 % presentaron mayor diámetro de tallo, altura, área foliar, peso seco, unidades SPAD, y mayor contenido de macro y micronutrientes en comparación con plantas en las que no se aplicó miel. Adicionalmente, las plantas asperjadas fueron más vigorosas y mostraron mayor adaptabilidad al trasplante. Además, plantas a las que se aplicó fertilizante foliar pero no miel de abeja, presentaron daños debido a las bajas temperaturas, mientras que las asperjadas con miel fueron más resistentes a este fenómeno ambiental. Al término del cultivo, la aplicación de miel y fertilización foliar incrementaron el vigor de las plántulas al momento del trasplante y aumentaron 31.26 % el rendimiento con respecto al testigo.

Las aplicaciones de miel de abeja al 2 % en tomate de cáscara aportaron una fuente de energía que permitió aumentar el desarrollo de las raíces incrementando el volumen de exploración en el substrato y, en consecuencia, se tuvieron concentraciones mayores de nutrientes disponibles para la raíz (Trejo *et al.*, 1998).

Levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*)

Plantas de calabacita asperjadas semanalmente con *S. cerevisiae* e inoculadas con el CMV fueron negativas al virus en la prueba DAS-ELISA, y presentaron los valores más altos en peso de biomasa de follaje y raíz (Ruvalcaba, 2008).

En campo, las aplicaciones semanales de *S. cerevisiae* redujeron significativamente la antracnosis en sorgo y una sola aplicación fue suficiente para reducir el progreso de la mancha foliar causada por *Exserohilum turcicum*. Bajo condiciones de campo, esta levadura fue eficaz para el control de enfermedades foliares en sorgo (Piccin *et al.*, 2005).

La aplicación del filtrado del cultivo de *S. cerevisiae* en hojas de café (*Coffea arabica*), 72 h antes de la inoculación de *Hemileia vastatrix*, indujo resistencia al patógeno sin afectar la germinación y formación de apresorios de las uredosporas del hongo (Passador *et al.*, 2008).

Ácido acetil salicílico (AAS)

El AAS funciona en las plantas como un componente dominante en la transducción de la señal que conduce a la resistencia sistémica adquirida (RSA) a muchos patógenos, incluyendo hongos, bacterias y virus (Maldonado, 2006).

Entre los mecanismos relacionados con el establecimiento de la RSA se encuentra la inducción de la síntesis de proteínas relacionadas con patogénesis (PRP). Estas proteínas y sus ARN mensajeros se acumulan en las hojas tratadas con el patógeno o con ácido salicílico (AS) (Maldonado, 2006).

Se ha reportado que el AAS interfiere con la replicación del TMV (Chivasa *et al.*, 1997); además, cuando se aplica exógenamente, interfiere con el movimiento de este virus y del CMV (Naylor *et al.*, 1998).

Ramírez *et al.* (2006), hizo aplicaciones de miel, AAS y melaza sobre plantas de jitomate inoculadas con el TSWV; analizó la concentración y movilidad del virus en la planta a los

15, 30 y 50 días después de la inoculación, y encontró que los tratamientos disminuyeron la concentración del virus, pero no tuvieron efecto sobre su movilidad.

Acibenzolar S-metil (ASM)

El desarrollo de compuestos sintéticos que inducen mecanismos de defensa en las plantas sugiere un nuevo enfoque para el manejo de las enfermedades. El ASM es un compuesto que induce la RSA en diferentes cultivos contra patógenos como bacterias y hongos (Louws *et al.*, 2001). Este compuesto no tiene una actividad directa sobre el patógeno; sin embargo, induce en el hospedante una serie de procesos bioquímicos que confieren resistencia (Cole, 1999).

Aplicaciones de ASM en plantas de jitomate disminuyeron la severidad de la bacteriosis provocada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* y *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. El control del patógeno fue superior al obtenido cuando se aplicaron productos a base de cobre; además redujo las manchas en hojas y frutos (Louws *et al.*, 2001). Por otro lado, aplicaciones de ASM en plantas de tabaco a partir de la cuarta semana después del trasplante no tuvieron efecto en la incidencia del TSWV, ni en el tamaño o rendimiento de las plantas en relación con parcelas no tratadas. Sin embargo, las aplicaciones del producto antes del trasplante fueron fundamentales para evitar la infección, lo que sugiere que las plantas deben ser protegidas antes de llevarlas al campo (Csinos y Pappu, 2001).

Aplicaciones de micronutrientes

La resistencia de las plantas está relacionada con su genética, y la capacidad para expresarla está en función de su nutrición mineral (Rodríguez *et al.*, 1997). Todos los nutrientes esenciales afectan la susceptibilidad de la planta a los patógenos, de tal manera que las plantas que se encuentran bajo estrés nutricional sean susceptibles, mientras que las que reciben una nutrición adecuada serán más tolerantes o resistentes a los patógenos (Vergara, 1995).

Las bacterias producen enzimas que degradan los tejidos de las plantas y el calcio inhibe estas enzimas (Bennet, 1993). La acumulación de silicio en la epidermis permite proteger y

fortalecer mecánica y bioquímicamente los tejidos de la planta del ataque de insectos y hongos (Quero, 2008). La combinación adecuada de Cu, Mn y Zn confieren ciertas propiedades a la planta, como incrementar su actividad productiva mejorando la calidad de frutos. Esto se logra porque hacen más eficiente el movimiento de las hormonas, ya que el cobre regula activamente el movimiento de las mismas y mejora del desarrollo vegetativo, además de participar en la maduración de los frutos (Azcón-Bieto, 2008). El manganeso regula los niveles de auxinas, participa en la transferencia de energía y fotosintatos e incrementa la resistencia de la planta a bajas temperaturas. El zinc es un elemento que participa activamente en la síntesis de auxinas, la transferencia de energía y en la integridad de las membranas celulares (Domínguez, 1997).

Extracto de clavo

Uno de los métodos alternativos de control de insectos, y de forma indirecta de los virus que transmiten, es la utilización de productos de origen vegetal. Existen alrededor de 40 especies de plantas, entre las cuales se encuentran la cebolla (*Allium cepa*), ajo (*A. sativum*) y el neem (*Azadirachta indica*), las cuales causan repelencia, toxicidad e inhibición de la oviposición de vectores de virus (Rodríguez, 2000).

Rodríguez *et al.* (2009), evaluaron el potencial repelente de diversos aceites esenciales (clavo, canela, naranja y tomillo) sobre mosca blanca. Determinaron que el aceite de canela y tomillo fueron los más efectivos, mientras que el aceite de clavo tuvo poca eficiencia.

LITERATURA CITADA

- Agrios G., N. 2008. Fitopatología. 2a edición. Editorial Limusa. México. 856 p.
- Ala-Poikela M., Svensson E., Rojas A., Horko T., Paulin L., T. Valkonen J.P. and Kvarnheden A. 2005. Genetic diversity and mixed infections of begomovirus infecting tomato, pepper and cucurbit crops in Nicaragua. *Plant Pathology*. 54: 448-459.
- Álvarez R., P., G. Gámez C., E. Leyva L.N. y L. Méndez J. 2006. First report of *Tomato chlorosis virus* infecting tomato crops in Sinaloa, México. *British Society for Plant Pathology*. 14: 40.
- Amari K., I. González D., Gómez P., R. Sampere N., P.M. Sánchez A., M. Aranda A., P.J. Díaz A., C. Nava J., Blanca J., G.M. Hernández D. and Anastasio G. 2008. *Tomato torrado virus* is transmitted by *Bemisia tabaci* and infects pepper and eggplant in addition to tomato. *Plant Disease*. 92:1139.
- Aquino H., O. 2005. Distribución de virus y efecto del ácido acetil salicílico y compuestos orgánicos en la severidad de virosis y roya blanca en tres variedades de crisantemo [*Dendranthema morifolium* (Ramat) Fzvelev]. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo. México. pp 60-64.
- Ascencio I., J.T., R. Díaz. P., I. Méndez J., Z.L. Monsalvo F., L. Arguello A., R.F. Rivera B. 1999. First report of tomato yellow curl virus in Yucatán, México. *Plant Disease*. 83: 1178-1184.
- Astier S., Albouy J., Maury J., Robaglia C., Lecoq H. 2006. Principles of plant virology: genomy pathogenicity, virus ecology. Sciences Publisher. 472 p.
- Azcón-Bieto J. 2008. Fundamentos de Fisiología Vegetal. 2ª edición. Editorial McGraw-Hill. Madrid, España. pp: 107-110.

- Bennet W., F. 1993. Nutrient deficiencies and toxicities in crop plants. APS Press. St. Paul, MN. USA. 202 p.
- Bedford I., D., W. Briddon R., K. Brown J., C. Rosell, R., G. Markham, P. 1994. Geminivirus transmission and biological characterization of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes from different geographic regions. *Annals of Applied Biology*. 125:311-325.
- Brown J., K. and B. Poulos T. 1990. Serrano golden mosaic virus: a newly identified whitefly-transmitted geminivirus of pepper and tomato in the United States and México. *Plant Diseases*. 74: 720.
- Brown J., K., A. Idris M. and D. Fletcher C. 1993. Sinaloa tomato leaf curl virus, a newly described geminivirus of tomato and pepper in west coastal México. *Plant Disease*. 77: 1162.
- Brown J., K., and R. Nelson M. 1998. Transmission, host range, and virus vector relationships of chino of tomatoes virus, a whitefly-transmitted geminivirus from Sinaloa, México. *Plant Disease*. 72: 866-869.
- Campbell K., M. and O. Farrel S. 2003. *Biochemistry*. Fourth Edition. Thomson. New York, USA. 725 p.
- Cárdenas S., E. 1999. Diagnóstico de virus mediante inclusiones virales, microscopia electrónica y rango de hospedantes. Colegio de Postgraduados. Montecillo. México. 147 p.
- Chellemi D., O., E. Funderburk J., W. Hall D. 1994. Seasonal abundance of flowerinhabiting *Frankliniella* species on wild plant species. *Environment Entomology*. 23: 337-342.

- Chivasa , S., M Murphy A., Naylor M. and P. Carr J. 1997. Salicylic acid interferes with tobacco mosaic virus via a novel salicylhycc-droxamic acid sensitive mechanism. *Plant Cell*. 9:547-557.
- Clark F., M. and N Adams A. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *GeneralVirology*. 34: 475-483.
- Cole D., L. 1999. The efficacy of Acibenzolar-S-methyl, an inducer of systemic acquired resistance, against bacterial and fungal diseases of tobacco. *Crop Protection*. 18: 267-273.
- Conti, M., D., Gallitelli,V., Lisa O., Lovisolo P., Martelli A., Ragozzino G., Rana L., y Vovlas C. 2000. Principales virus de las plantas hortícolas. Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España. 206 p.
- Cruz F., M., y G.A. Frías T. 1997. Guía ilustrada de la prueba de inmunoabsorción con enzimas ligadas para la detección de fitopatógenos. SAGARPA. Dirección General de Sanidad Vegetal. Centro de Referencia de Diagnóstico Fitosanitario. México. D.F. 23 p.
- Csinos A., S., and R. Pappu H. 2001. Management of tomato spotted wilt virus in flue-cured tobacco with acibenzolar s-methyl. *Plant Disease*. 85: 292-296.
- De la Torre A., R, D. Cervantes D., A. Houston H. y R. Valverde. 2002. Variación fenotípica de algunos aislamientos mexicanos del virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV). *Agrociencia*. 36: 211-221.
- De la Torre A., R., M. Salazar S., R. Ruiz M. 2007. Ocurrencia de un tobamovirus asociado con manchas anulares amarillas en nopal tunero en México. *Agrociencia*. 7: 763-773.

- Delgado S., S. 1974. Los virus que atacan al cultivo del chile (*Capsicum annum* L.) en México. Sus implicaciones, identificación, transmisión y medidas de combate. *Agricultura Técnica en México*. 3: 317-325.
- Díaz P., R., J. Méndez L., R. Peña R., J. Áviles B., J. Ascencio I., Z. Monsalve F. y F. Rivera BR. 2003. Epidemiology of TYLCV and another geminiviruses in Yucatán, Peninsula, México. Congreso Internacional de geminivirus y mosquita blanca. Norwich, Inglaterra. 26 p.
- Domínguez V., A. 1997. Tratado de Fertilización. 3a edición. Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España. pp: 44-54.
- Duffus J., E., H. Liu Y. and G. Wisler C. 1994. A new closterovirus of tomato in southern California transmitted by de greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*). *Phytopathology*. 84: 1072-1073.
- Duffus J., E., H. Liu Y. and G. Wisler C. 1996. Tomato infectious chlorosis virus- a new clostero-like virus transmitted by *Trialeurodes vaporariorum*. *European Journal of Plant Pathology*. 102: 219-226.
- Edwardson J., R., G. Christie R. 1997. Virus infecting solanaceous crops. University of Florida Extension Station. IFAS. pp: 128-133.
- Enríquez M., A. 2000. Uso de la miel de abeja en la producción de jitomate y chile. Tesis de Maestría. Colegio de Posgraduados. Montecillo, México. pp:1-6.
- EPPO. European and Mediterranean Plant Protection Organization. 1996. EPPO A1 and A2 list of pest recommended as quarantine pests. www.eppo.int/quarantine/quarantine.htm (consulta 2012).
- FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2010. División de estadísticas de la FAO. División Agrícola. www.faostat.org (consulta 2012).

- Fauquet C., M., M. Mayo A., Maniloff J., Desselberger U. and L. Ball A. 2005. Elsevier Academic Press. Virus Taxonomy, VIIIth report of the International Committee on Taxonomy of Virus. London, UK. 1162 p.
- Fromme F., D., S Wingard A. and C. Priode N. 1927. Hosts and symptoms of Ring Spot, a viruses of plants. *Phytopathology*. 17: 321.
- Fulton J., P. 1962. Transmission of tobacco ringspot virus by *Xiphinema americanum*. Ediciones Plenum Press, N. Y. U.S.A. 120 p.
- Gallegos H., M. 1978. Enchinamiento del tomate (chino disease of tomato). In: enfermedades de cultivos en el estado de Sinaloa. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Sinaloa, México. 26 p.
- Garrido R, E.R. y L. Gilbertson R. 1998. First report of Tomato Mottle Geminivirus infecting tomatoes in Yucatán, México. *Plant Disease*. 91: 592.
- Garzón T. JA., I. Torres P., T. Ascencio JJ., L. Herrera E. y F. Rivera BR. 1993. Inoculation of peppers with infectious clones of a new geminivirus by a biolistic procedure. *Phytopathology*. 53: 514-521.
- Garzón T., J.A. 1987. Alternativas para el control de virus en hortalizas. Enfermedades virales en cultivos de importancia en México. In: Memorias. SARH-INIFAP, Celaya, Gto. México. 64 p.
- Garzón T., JA, G. Acosta G., I. Torres P., M. González C., F. Rivera BR., V. Maya H. y G. Guevara GR. 2001. Presencia de los geminivirus huasteco del chile (PHV) y chino del tomate (CdTV) en los estados de Guanajuato, Jalisco y San Luis Potosí, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 20: 45-52.
- Goldbach R. and Kuo G. 1996. Biodiversity and Taxonomy of Tospoviruses. *Acta Horticulture*. 431: 21-26.

- Guevara G., R.G., L. Ramos P., R.F. Rivera B. 1999. Completion of coat protein mutants of pepper huasteco geminivirus in transgenic tobacco plants. *Phytopathology*. 89:540-545.
- Hanssen I., M, Lapidot M. and B. Thoma P.H.J. 2010. Emerging viral diseases of tomato crops. *Molecular Plant-Microbe Interaction*. 23: 539-548.
- Holguín P., R.J., J. Vázquez R. y B. Rivera R.F. 2003. *Pepper golden mosaic virus* affecting tomatoes crops in the Baja California Península, México. *Plant Diseases*. 88: 221.
- Holguín P., R.J., R. Vázquez J. and B. Rivera R.F. 2005. A new Begomovirus causes tomato leaf curl disease in Baja California Sur, México. *Plant Disease*. 89: 341.
- Holguín P., R.J., R. Arguello A.G., K. Brown J. and B. Rivera R.F. 2006. A new strain of *Tomato Chino La Paz virus* associated with a leaf curl disease of tomato in Baja California Sur, México. *Plant Disease*. 90: 973.
- Holguín P. R.J, G. Hernández M.L. y B. Latisnere H. 2010. Identificación y distribución geográfica de *Bemisia tabaci* Gennadius y su relación con enfermedades begomovirales en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en Baja California, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 28: 58-60.
- Hollings M., and M. Stone O.. 1971. *Tomato aspermy virus*. Description of plant viruses N. 79. Commonwealth Mycological Institute and the Association of Applied Biologist. Kew, Surrey, England. pp: 1-4.
- Idris A., M., and T. Brown K. 1998. *Sinaloa tomato leaf curl geminivirus*. Biological and molecular evidence for a new Subgroup III virus. *Phytopathology*. 88: 648-657.
- Jones R, A.C., Koenning R. and D. Lesemann E. 1980. *Pepino mosaic virus*, a new Potexvirus from pepino (*Solanum muricatum*). *Annal of Applied Biology*. 94: 61-68.

- Jones J., B. and J. Paul J. 1991. Compendium of Tomato Diseases. The American Phytopathological Society. pp: 31-40.
- Jordá C., L., A. Martínez C. y P. Lacasa A. 2001. First report of *Pepino mosaic virus* on natural host. Plant Disease 85:1292.
- Klug S., W., and M. Cummins R. 1999. Conceptos de genética. 5ª edición. Prentice Hall. 814 p.
- Kai-Shu L., M. Wintermantel W. and Bledsoe M. 2008. Genetic composition of *Pepino mosaic virus* Population in North American greenhouse tomatoes. Plant Disease 92:1683-1688.
- Kring J., B., J. Shuster, D., F. Price J. and W. Siomne, G. 1991. Relationship of the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* (Glenn) to a new fruit disorder of tomato. Plant Disease. 75 : 1186-1192.
- Ley F., J.H., R.S. García E. 1998. Virus que afectan al cultivo del tomate. In: enfermedades de hortalizas. Universidad Autónoma de Sinaloa-INIFAP. Culiacán México. 30 p.
- Ling K., S, and Zhang W. 2011. First report of *Pepino mosaic virus* infecting tomato in México. Plant Disease 95: 1035.
- Lorenzen J., H., M. Piche L., C. Gudmeastad N., Meacham T. and Siel P. 2006. A multiplex PCR assay to characterize potato virus Y isolates and identify strains mixtures. Plant Disease. 90: 935-940.
- Louws F., J., Willson M., and L. Campbell H. 2001. Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant activator. Plant Disease. 85: 481-488.
- Maldonado C., E. 2006. Resistencia sistémica inducida a *Cucumber Mosaic Virus* por *Bacillus spp* y ácido acetilsalicílico en calabacita (*Cucurbita pepo* L.) variedad

- Zucchini grey. Tesis de Licenciatura. Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 43 p
- Martínez A., J, A. Galindo J. y R. Rodríguez. 1974. Estudio de la enfermedad “pinto” del jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en la región de Actopan, Hidalgo. Agrociencia. 18: 71-78.
- Mauricio C., J.A., Argüello AGR and Alpuche SAG. 2006. First report of *Tomato severe leaf curl virus* in Mexico. Plant Diseases 90:1116.
- Méndez L., J., A. Magallanes T.M., L. Romero R.J., B. Camacho E. y E. Santos C.M. 2012. *Tomato infectiuos chlorosis virus* associated with tomato diseases in Baja California, México. Plant Disease. 96: 1229.
- Messiaen C., M. 1995. Thirty years of France experience in production of disease-free garlic and shallot mother bulbs. Acta Horticultura. 358: 275-279.
- Mota S., J. 1991. Evaluación de resistencia de tomate silvestre (*Lycopersicon esculentum* var. cerasiforme) a los virus Y de la papa, mosaico del pepino y a la mezcla de ellos, bajo condiciones de invernadero. Tesis de Licenciatura. Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp: 6-28.
- Naylor M., A. Murphy M., O. James B., J. Carr P. 1998. Salicylic acid can induce resistance to plant virus movement. Molecular Plant-Microbe Interactions. 11: 860-868.
- Nelson L., D., y C. Cox M. 2006. Lehninger principios de bioquímica. 4ª edición. Omega. Editorial Mundiprensa. España. 119 p.
- Noordam D, Bijl M, C. Overbeek S. and S. Quiniones S. 1965. Evaluation of *tomato aspermy virus* and mechanism of transmission. Phytopathology. 71: 61.
- Nuez F. 2001. El cultivo de jitomate. Mundi Prensa. Madrid, España. 793 p

- Obermier C., L., L. Sears J., H. Liu Y., O. Schlueter , E. Ryder J., E. Duffus J., T. Koike S. and C. Wisler. 2001. Characterization of distinct Tombusviruses that cause diseases of lettuce and tomato in the western United States. *Phytopathology*. 91: 797-806.
- Passador M., M., F. Barreto M., E. Furtado L. 2008. Efecto inhibitor del extracto acuoso de las teliosporas tiloides hongo *Puccinea pampiana* sobre agentes causales de royas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 26:138-146.
- Pérez M., L y E. Rico J. 2004. Virus fitopatógenos en cultivos hortícolas de importancia económica en el estado de Guanajuato. 1ª edición. Universidad de Guanajuato. 43 p.
- Pérez M., L., E. Rico J., y J.R. Sánchez P. 2004. Identificación de virus fitopatógenos en cultivos hortícolas de importancia económica en el estado de Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 2: 187-197.
- Perring T., M., D. Cooper A., J. Rodríguez R., A. Farrar C., S. Bellows T. 1993. Identification of a whitefly species by genomic and behavioral studies. *Science* 259:74-77.
- Piccin E., R. Piero M., E. Pascholati S. 2005. Efecto de *Saccharomyces cerevisiae* en productividad de sorgo y en severidad de daños foliares en campo. *Fitopatologia Brasileira* 30:5-9.
- Polston, C., B., O. Chelemii, D., J. Shuster D., J. McGovern R, and A. Stanley P. 1996. Spatial and temporal dynamics of tomato mottle geminivirus and *Bemisia tabaci* in florida tomato fields. *Plant Disease*. 80: 1022-1028
- Polston, J., E. and P. Anderson K. 1999. Surgimiento y distribución de geminivirus transmitidos por mosca blanca en tomate en el hemisferio occidental. *Manejo Integrado de Plagas*. 53: 230-248.
- Providencia L. y Fernández F. 2004. Factibilidad del uso de una ELISA indirecto para la detección de *Glomus clarum*. *Cultivos Tropicales*. 25: 19-22.

- Pozzer L., C. Bezerra I., Kormelink R., Prins M., Resende O. y C Ávila A. 1996. Characterization of a tospovirus isolate of iris yellow spot virus associated with a disease of onion fields in Brazil. *Plant Disease*. 83: 345-350.
- Quero E., G. 2008. Silicio en la producción agrícola. Curso de Horticultura Orgánica. Fundación Produce Sinaloa. Culiacán, Sinaloa. México. pp: 63-73.
- Ramírez R., S., A. Salazar P. y Nakagome T. 2001. Manual de plagas y enfermedades del jitomate, tomate de cáscara y cebolla en Morelos. Campo Experimental Zacatepec, INIFAP. Folleto técnico No. 28. Zacatepec, Mor., México. 110 p.
- Ramírez F., J., D.L. Ochoa M., M.N. Rodríguez M., G. Mora A. 2006. Efecto del ácido acetil salicílico, miel y melaza en la movilidad y concentración de TSWV. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*. 12: 239-243.
- Ramírez R., S., F. Osuna G. J.M. Vázquez A., J.D., Bustamante O. J. Canul K. y T. Ocampo O. 2009. Plagas y enfermedades del jitomate cultivado en invernaderos y bioespacios de Morelos. Campo Experimental Zacatepec, INIFAP. Folleto técnico No. 37. Zacatepec, Mor., México. 110 p.
- Rivera B., R. y L. Silva R. 1997. Virus de plantas: ¿terribles patógenos o interesantes modelos de estudio. *Avance y perspectiva*. 16:21-26.
- Robert L., W. 2009. Greenhouse crops and floriculture. The college of natural science. Department of microbiology. pp: 68-89.
- Roberts I., M. 1986. Practical aspects of handling, preparing and staining samples containing plant virus particles for electron microcopy. Wellesbourne, Inglaterra. 312 p.
- Robles H., L., A.C. González F., E. Gill L., L. Pérez M., J.C. López D. 2010. Virus fitopatógenos que afectan al cultivo de chile en México y análisis de las técnicas de detección. *Tecnociencia*. 2: 72-86.

- Rodríguez R., R., J. M. Tabares R., y J.A. Medina S. 1984. Cultivo moderno del tomate. MundiPrensa. Madrid, España. 206 p.
- Rodríguez R., R., J.M. Tabares R., y J.A. Medina S. 1997. Cultivo moderno del jitomate. 2ª Edición. MundiPrensa. Madrid. España. 255 p.
- Rodríguez H., C. 2000. Plantas contra plagas. Potencial práctico de ajo, anona, neem, chile y tabaco. 2ª Edición. Colegio de Postgraduados. México. 133 p.
- Rodríguez H., C., L.D. Ortega A., D. Ochoa M. y S. Infante G. 2009. Repelencia de adultos de mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum* West.) con aceites esenciales. Fitosanidad. 13:11-14.
- Rodríguez L., E. 1992. Virus que dañan al jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en México y métodos de control: revisión de literatura. Tesis de Licenciatura. Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp: 17-76.
- Roitt I. M., Brostoff J. and Male D.K. 2003. Immunology. Third edition. Ed. Mosby. St. Loius, E.U. 34 p.
- Rosello S., y Nuez F. 1977. Estado actual de la lucha contra el virus del bronceado del tomate. Revista de la Facultad de Agronomía. 14: 611-624.
- Ruvalcaba E., S. 2008. Resistencia sistémica a *cucumber mosaic virus* (CMV) mediante *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cereviceae*, miel y ácido acetil salicílico en calabacita (*Cucurbita pepo* L.) var. Zucchini Grey. Tesis de Licenciatura. Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 41 p.
- SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2011. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. www.siap.gob.mx/index (consulta 2012).

- Smith K., M. 1972. A textbook of plant virus diseases. 3th Ed. Longman, London, U.K. pp. 541-544
- Stenger D., C. E. Duffus J. and Villalon B. 1990. Biological and genomic properties of a geminivirus isolated from pepper. *Phytopathology*. 80: 704-709.
- Stevenson W., R. 1991. Late blight. In: *Compendium of Tomato Diseases*. Jones J., B. and J. Paul J. The American Phytopathological Society. pp: 60-62.
- Sutic D., D., M. Tomic, T., R. Ford E. 1999. *Handbook of Plant Virus Diseases*. CRC Press. 553 p.
- Torres P., I., A. Garzón T., K. Brown, J., A. Becerra F., y F.R. Rivera B. 1996. Detection and distribution of geminiviruses in México and the Southern United States. *Phytopathology*. 86: 1186-1192.
- Trejo T., L., M.N. Rodríguez M. y A. Enríquez M. 1998. Aplicación foliar de miel de abeja en la producción de almácigos hortícolas. Resúmenes del 1er Simposio Nacional sobre nutrición de cultivos. Querétaro, México.
- Tun S., J.M., 1994. Comportamiento del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bajo el sistema de cubiertas flotantes para el control del "chino". Tesis de Maestría. Colegio de postgraduados. Montecillo, México. 79 p.
- Turina M., M. Dicker D., Lenzi R., Masenga V. and Ciuffo M. 2007. A severe disease of tomato in Culiacán area (Sinaloa, México) is caused by a new Picorna-lie viral species. *Plant Disease*. 91: 932-941.
- Uexkull V., H.R. 1978. Tomato: Nutrition and fertilizer requirements in the tropics. In: *Proceedings of the 1st international symposium on tropical tomato*. Shanhua, Taiwan. pp: 45-48.

- Urias M., C., y T. Alejandro A. 1999. Los virus y su impacto en la producción agrícola. In: Hortalizas. Plagas y enfermedades. Ed. Trillas, México, D.F. 544 p.
- Valenzuela H, V., Redondo, J.E. y Bujanos, M.R. 2003. Detección de virus por serología y plantas indicadoras en el tubérculo-semilla y plantas de cultivos de meristemas en papa (*Solanum tuberosum* L.) Var. Alfa. Revista Mexicana de Fitopatología. 21: 176-180.
- Vander der Vlugt R., A.A. 2009. *Pepino mosaic virus*. Hellenic Plant Protection Journal. 2:4756.
- Verdugo G., F. 1989. Etiología de una nueva enfermedad del tomate en Sinaloa; supervivencia. Memorias XVI Congreso Nacional de Fitopatología. Montecillo, México. 14 p.
- Vergara M.A., S. 1995. Guía para la colección, manejo, análisis e interpretación de material vegetal con fines de diagnóstico nutricional. CEDOC. Depto. De Suelos. UACH. Texcoco, México. 158 p.
- Walker J., M. and B. Gingold E., 1997. Biología molecular y biotecnología. 2a Edición. Acribia. Zaragoza, España. 475 p.
- Walkey G.A., D. 1991. Applied plant virology. 2a. Ed. Chapman Hall. London, UK. 338 p.
- Wintermantel W., M., and G. Wisler C. 2006. Vector specificity, host range, and genetic diversity of *Tomato chlorosis virus*. Plant Disease. 90: 814-919.
- Wisler G., C., H. Liu Y., V. Klaasen A., J. Duffus E. and B. Falk W. 1996. *Tomato infectious chlorosis virus* has a bipartite genome and induces phloem-limited inclusions characteristics of the closterovirus. Phytopathology. 86: 624-626.

Wisler G., C., R. Li H., H. Liu Y., D. Lowry S. and J. Duffus E. 1998. *Tomato chlorosis virus*: a new whitefly-transmitted, phloem limited, bipartite closterovirus of tomato. *Phytopathology*. 88: 402-409.

Wisler G., C. 2000. A new disease is spreading. Researchers are on the trail of tomato dieback. *Groer Greenhouse insider*. 4: 6-8.

Zavaleta M., E. 1999. Alternativas de manejo de enfermedades de las plantas. *Agrociencia*. 17: 47-55.

CAPÍTULO II. CONTROL ALTERNATIVO DE VIROSIS EN JITOMATE EN UN INVERNADERO COMERCIAL DE ZACATEPEC, MORELOS

RESUMEN

En un invernadero comercial de jitomate ubicado en Zacatepec, Morelos, se realizaron aplicaciones independientes de miel de abeja, *Saccharomyces cerevisiae*, ácido acetil salicílico, cobre-manganeso-zinc y acibenzolar S-metil para determinar su efecto sobre el rendimiento, incidencia y severidad de virosis en este cultivo. Adicionalmente, se evaluó el extracto de clavo como repelente de mosca blanca. Durante cinco semanas se evaluaron la incidencia y severidad de virosis, la altura de plantas y la población de mosca blanca. Al término de las aplicaciones se calculó el rendimiento en cuatro fechas de corte. Las plantas tratadas con levadura tuvieron la menor incidencia en la primera fecha de evaluación, siendo estadísticamente igual a los demás tratamientos en el resto de las fechas. Plantas asperjadas con acibenzolar S-metil mostraron la menor severidad en las tres primeras fechas de evaluación, mientras que las tratadas con miel presentaron los valores más altos de incidencia en todas las fechas de evaluación. No se encontró correlación entre incidencia, severidad, altura de plantas y población de mosca blanca. El extracto de clavo no funcionó como repelente de mosca blanca. El rendimiento de las plantas asperjadas independientemente con los distintos tratamientos fue igual al testigo comercial; sin embargo, las tratadas con levadura y ácido acetil salicílico tuvieron la mayor relación beneficio/costo.

Palabras clave: Levadura de cerveza, ácido acetil salicílico, miel de abeja, acibenzolar S-metil, virus, *Solanum lycopersicum*.

CHAPTER II. ALTERNATIVE CONTROL OF VIROSES INFECTING TOMATO IN A COMMERCIAL GREENHOUSE OF ZACATEPEC, MORELOS

ABSTRACT

In a tomato commercial greenhouse located in Zacatepec, Morelos, honey, *Saccharomyces cerevisiae*, acetyl salicylic acid, copper-manganese-zinc, and S-methyl acibenzolar were applied independently to evaluate its effect on yield, incidence and severity of viral diseases in this crop. Additionally, it was evaluated a clove extract as a whitefly repellent. During five weeks they were evaluated the incidence and severity of viral disease, whitefly population and plant height. Finally, yield was evaluated in four court dates. Yeast treated plants had the lowest incidence at the first evaluation date, being statistically equal to the others treatments in the rest of the dates. Sprayed plants with S-methyl acibenzolar showed less severity at the first three evaluation dates, while those ones treated with honey had the highest values of incidence at all evaluation dates. There were no correlation among the incidence, severity, plant height, and population whitefly. The clove extract did not work as a repellent of whiteflies. Tomato production of plants treated independently with honey, *Saccharomyces cerevisiae*, acetyl salicylic acid, copper-manganese-zinc, and S-methyl acibenzolar was similar to control plants; however, plants sprayed with yeast or acetyl salicylic acid had the highest cost/profit relationship.

Keywords. Yeast, acetyl salicylic acid, honey, S-methyl acibenzolar, virus, *Solanum lycopersicum*.

INTRODUCCIÓN

A nivel nacional, el cultivo de jitomate bajo cubierta ha mantenido un crecimiento sostenido en los últimos años. Sin embargo, las enfermedades en donde el patógeno es transmitido por insectos constituyen uno de los factores limitantes para su producción. (Jones *et al.*, 2001). Conceptualmente, no deberían existir problemas de plagas o enfermedades transmitidas por insectos, ya que la estructura física del invernadero representa una barrera física para su ingreso al cultivo, pero en ocasiones los factores ambientales y/o la acción directa o indirecta del hombre pueden dañar la estructura de los invernaderos, facilitando la entrada de los vectores (Garzón, 2006).

En México, el cultivo del jitomate es afectado por diversos patógenos, de los cuales los más importantes son los virus (Urias y Alejandre, 1999). Los virus son transmitidos de una planta enferma a una sana mediante propagación vegetativa, mecánicamente, por semilla, polen, ácaros, insectos, nematodos, plantas parásitas (*Cuscuta*) y por algunos hongos (Agrios, 2008).

Una forma de restringir o disminuir la transmisión de virus a través de insectos vectores es modificando las fechas de siembra a fin de evitar las altas poblaciones de insectos y la etapa susceptible del cultivo (Morales, 1994). Otra estrategia para evitar las enfermedades virales es con el uso de semilla certificada, esta práctica tiene como propósito descartar posibles fuentes de inóculo. El control de maleza dentro y fuera del cultivo es otra práctica que puede eliminar fuentes de inóculo y reservorios de plagas, ya que existe una gran cantidad de especies de plantas silvestres y cultivadas que son hospederas de insectos vectores (Camacho, 2005).

Los virus transmitidos de forma no persistente que causan enfermedades en jitomate pueden evitarse con la siembra de barreras vegetales. Con esta medida se pretende que cuando el insecto realice la picadura de prueba en la barrera vegetal, pierda al virus que porta en el estilete (Rodríguez, 1992).

Debido a que los insectos son atraídos por los colores amarillo, verde o anaranjado, también se pueden colocar trampas pegajosas de alguno de estos colores, de este modo es posible capturar, eliminar o detectar las primeras infestaciones (Morales, 1994).

Generar variedades resistentes a los virus (control genético) es quizás la orientación más prometedora en la lucha contra estos patógenos. La resistencia vertical consiste en la expresión de uno o más genes específicos que tienen efecto sobre la interacción con el patógeno (Vanderplank, 1984). Las plantas que presentan estos genes son altamente resistentes o inmunes a las cepas virales “tipo”, pero una o varias mutaciones que ocurran en el patógeno pueden originar una nueva variante del virus, la cual entonces infecta a las plantas anteriormente resistentes (Conti *et al.*, 2000).

Actualmente, el control químico de plagas mediante el uso de insecticidas es el método más empleado en la mayoría de las regiones agrícolas de nuestro país. Este tipo de control es práctico y confiable cuando las poblaciones de plagas se encuentran cerca o por arriba del umbral de acción. Sin embargo, la aplicación de agroquímicos tiene serias consecuencias, ya que puede generar resistencia, tener efecto adverso sobre especies de enemigos naturales, incrementar la población de plagas secundarias, generar problemas de residuos en alimentos y tener un alto impacto ambiental (Ramírez *et al.*, 2009); por lo que es importante investigar sobre sustancias biológicas o alternativas de manejo que reemplacen el uso de agroquímicos, no afecten la salud humana, tengan buen control y que sean económicamente rentables. Con base en lo anterior, los objetivos de la presente investigación fueron determinar el efecto que tienen la miel de abeja, ácido acetil salicílico, acibenzolar S-metil y una mezcla de cobre-manganeso-zinc sobre el rendimiento, y la incidencia y severidad de virosis en el cultivo de jitomate. Adicionalmente, se determinó el efecto repelente del extracto de clavo sobre la mosca blanca.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del experimento

El experimento se estableció durante el ciclo primavera-verano 2011 en una sección de un invernadero en producción comercial de jitomate (*Solanum lycopersicum*) Var. Ramses, ubicado en el municipio de Zacatepec, Morelos.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental de bloques completamente al azar con siete tratamientos y cinco repeticiones (Cuadro 2.1). Cada unidad experimental consistió de nueve plantas con una distancia de 40 cm entre ellas y 90 cm entre surcos (63 plantas/surco, 45 plantas/tratamiento).

Tratamientos

1. Miel de abeja al 2 % (M)
2. Levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*) (Tradi-pan®) 1 g/L (L)
3. Ácido acetil salicílico 1 mmol (Pharmolam®) (AAS)
4. Acibenzolar S-metil (Actigard®) 0.2 mg/ L (A)
5. Cobre (2.1%), manganeso (2.1%) y zinc (2.1%)(Rezist®) 10 mL/ L (Cu-Mn-Zn).
6. Extracto de clavo 0.25 % (Pharmolam®) (E)
7. Testigo comercial (T). Este tratamiento consistió en la aplicación de agroquímicos usados localmente (Engeo®, Plenum®, Ridomil Gold®, Confidor®, Kasumin®, Captan®, Agrigen®, Thiodan®, Vidate®, Diacur®, Virus stop®, Knack®, Cuprimicin®, Diclorvos® y Evisect®) a la dosis y frecuencia considerada por el productor.

La germinación de semilla de jitomate se hizo en charolas de unicel desinfectadas con hipoclorito de sodio al 3 %. Las charolas se llenaron con Peat moss como sustrato y las semillas se sembraron a 1 cm de profundidad; se regaron y fertilizaron a consideración del productor durante los 30 días posteriores a la siembra. Las plántulas obtenidas se trasladaron al invernadero para trasplantarlas a bolsas de plástico negras con arena y tezontle rojo en proporción de uno a tres.

Las plantas de todos los tratamientos, a excepción del testigo, se asperjaron semanalmente al follaje hasta punto de goteo a los 21 días después del trasplante. Se añadió Adhequim® como adherente a una dosis de 1.5 mL/L en todas las aspersiones. Las aplicaciones se realizaron durante siete semanas consecutivas.

T	M	AAS	L	E
M	A	E	A	T
L	AAS	L	Cu-Mn-Zn	M
A	T	A	E	AAS
E	Cu-Mn-Zn	M	T	Cu-Mn-Zn
AAS	L	Cu-Mn-Zn	AAS	A
Cu-Mn-Zn	E	T	M	L

Cuadro 2.1 Distribución de los tratamientos en el invernadero. Testigo comercial (T), miel de abeja (M), levadura de cerveza (L), acibenzolar S-metil (A), extracto de clavo (E), ácido acetil salicílico (AAS) y cobre-manganeso-zinc (Cu-Mn-Zn).

Parámetros evaluados

Los parámetros evaluados fueron incidencia, severidad, altura de planta, rendimiento y población de mosca blanca. Las evaluaciones se hicieron tres semanas después del trasplante durante siete semanas.

Para realizar las evaluaciones no se registraron los datos de dos plantas de cada orilla de las unidades experimentales, ya que durante la aplicación de los tratamientos estas plantas estuvieron expuestas a la aspersión de dos o tres productos.

Incidencia

La incidencia se evaluó en cada unidad experimental registrando el número de plantas con y sin síntomas de virosis. A las plantas con síntomas se les asignó el valor 1 y a las asintomáticas el valor 0.

Severidad

Para evaluar la severidad se realizó una escala nominal arbitraria. En las distintas evaluaciones, se asignó un valor de severidad a cada planta de acuerdo con los síntomas inducidos por los virus durante el desarrollo del cultivo (Figura 2.1).

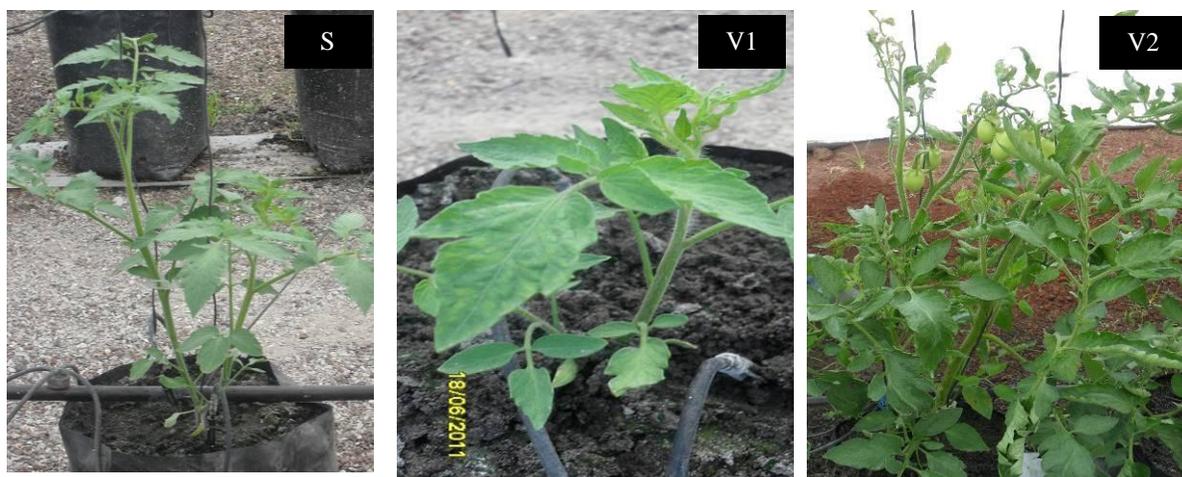




Figura 2.1 Escala nominal de severidad. Planta sana (S), síntomas en el 2.5 % de la planta (V1), síntomas en el 25 % de la planta (V2), síntomas en el 50 % de la planta (V3), síntomas en el 75 % de la planta (V4), síntomas en el 100 % de la planta (V5).

Altura de plantas

A los 21 días después del trasplante se midió con una cinta métrica la altura de las plantas de cada tratamiento desde la base del tallo hasta el punto de crecimiento.

Rendimiento

A los 64 días después del trasplante se cosecharon y pesaron los frutos que alcanzaron la madurez comercial de cada uno de los tratamientos. Se realizaron cuatro cortes a intervalos de una semana (19 y 26 de agosto, y 2 y 9 de septiembre de 2011).

Población de mosca blanca

Se contabilizó el número de adultos de mosca blanca en las hojas basal, media y apical de cinco plantas por tratamiento.

Las evaluaciones de incidencia, severidad, altura de plantas y población de mosca blanca, se realizaron el 15, 22 y 29 de julio, y el 5 y 12 de agosto de 2011.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos en cada variable se sometieron a un análisis de varianza y separación de medias con la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). Adicionalmente, se hizo un análisis de correlación con el paquete estadístico SAS® y se elaboraron mapas espacio-temporales de la incidencia, severidad y número de moscas blancas utilizando el programa Surfer®.

Análisis económico

Se relacionó el valor de la producción total con el costo de cada tratamiento para obtener la relación beneficio-costos. Se tomó en cuenta sólo el costo de cada producto por tratamiento, ya que los gastos de aplicación, labores culturales y fertilización fueron los mismos en todos los casos.

RESULTADOS

Los primeros síntomas de virosis se observaron a los 15 días después del trasplante. Durante el ciclo del cultivo las plantas mostraron mosaico, amarillamiento, manchas rojizas en folíolos, enrollamiento y distorsión de la lámina foliar, y achaparramiento (Figura 2.2).

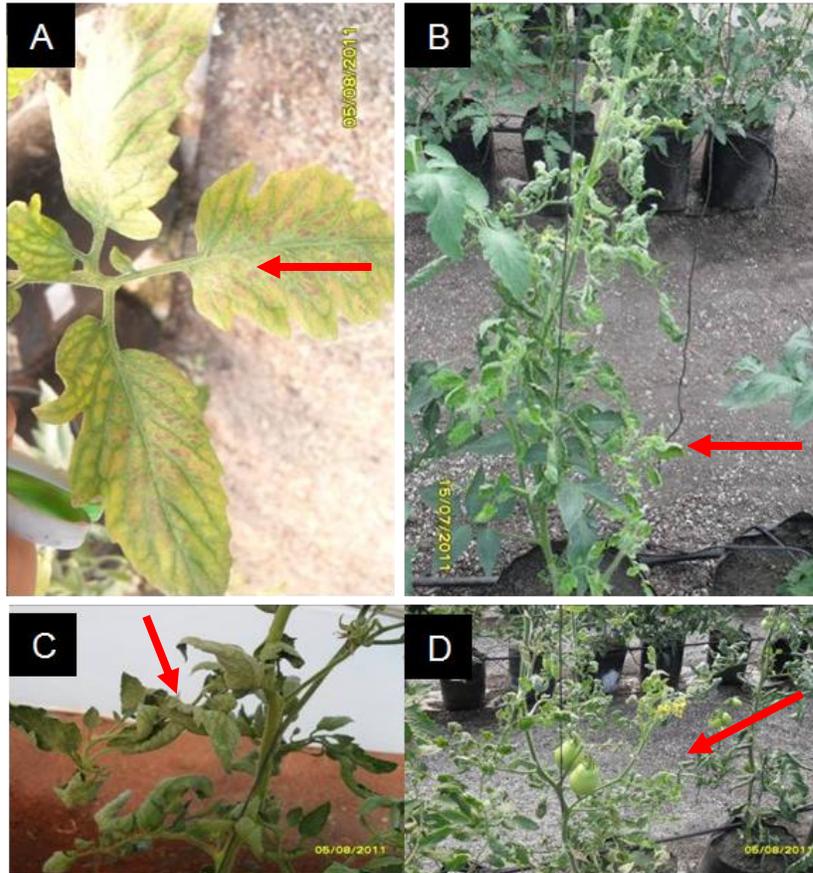


Figura 2.2 Síntomas más comunes observados en el invernadero de Zacatepec, Morelos durante el ciclo del cultivo de jitomate. Manchas rojizas en folíolos y mosaico (A); mosaico, enrollamiento y distorsión de la lámina foliar (B); distorsión de hojas (C); achaparramiento (D).

Incidencia

La incidencia de virosis en las plantas sometidas a los tratamientos no mostró diferencias significativas. Sin embargo, los análisis estadísticos por fecha de evaluación indicaron que

en la primera fecha (15 de julio) los síntomas de virosis se presentaron en el 90 y 68 % de las plantas tratadas con miel de abeja y levadura, respectivamente (Figura 2.3).

En las cuatro fechas posteriores de evaluación no se tuvieron diferencias estadísticas entre los tratamientos.

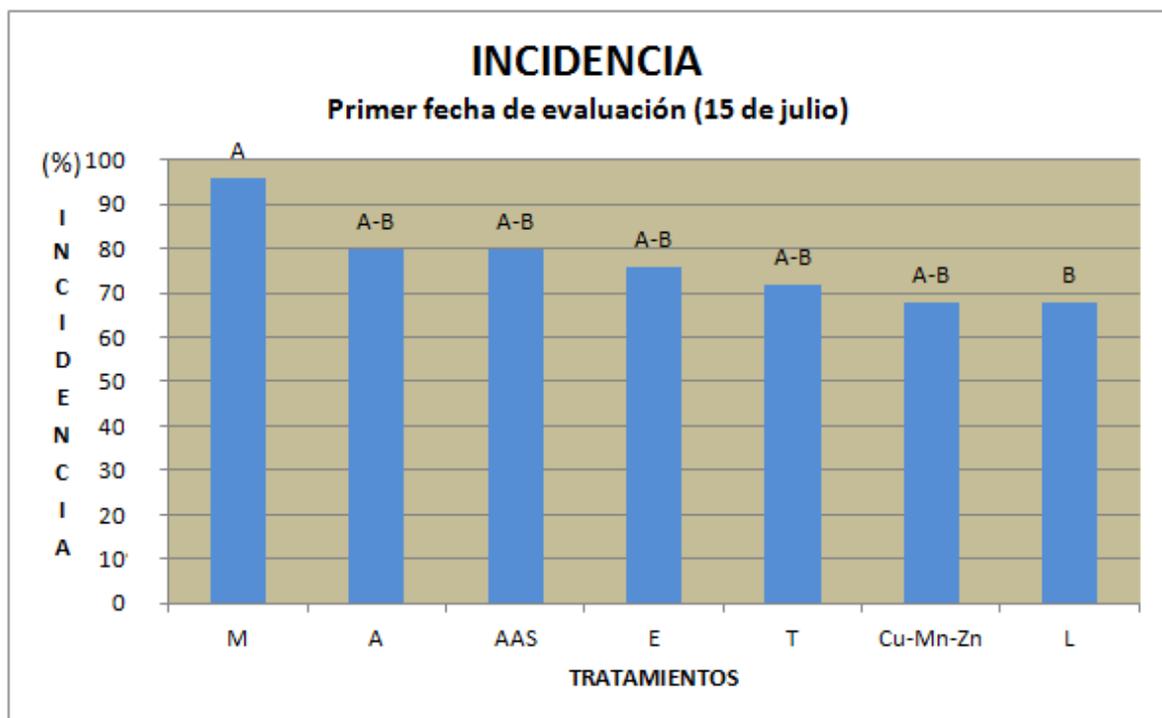
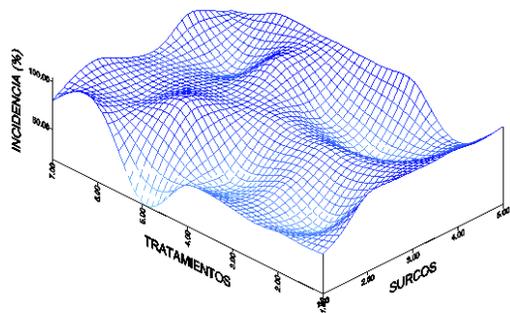
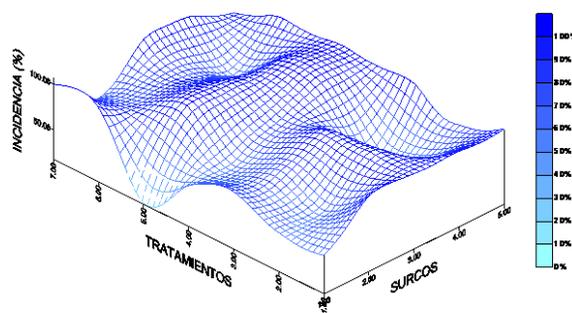


Figura 2.3 Incidencia de plantas con síntomas de virosis asperjadas independientemente con miel de abeja (M), acibenzolar S-metil (A), ácido acetil salicílico (AAS), extracto de clavo (E), cobre-manganeso-zinc (Cu-Mn-Zn) y levadura (L). Testigo comercial (T). Cada barra representa el promedio de 25 plantas evaluadas. Para cada tratamiento, barras con diferente letra son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$).

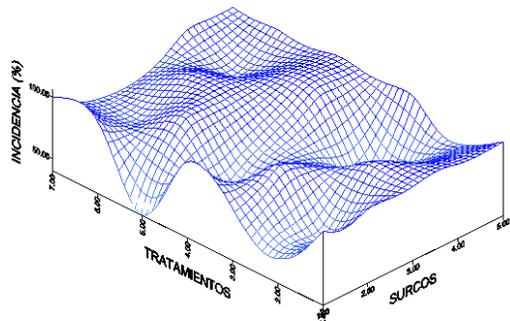
Con base en los mapas espacio-temporales, se observó que la incidencia de la enfermedad fue mayor en el lado sur, en donde se localiza la entrada del invernadero; y disminuyó ligeramente hacia el centro. También se observó un progreso gradual y constante de la incidencia en prácticamente toda la unidad experimental, llegando a valores muy similares en la última fecha de evaluación (Figura 2.4).



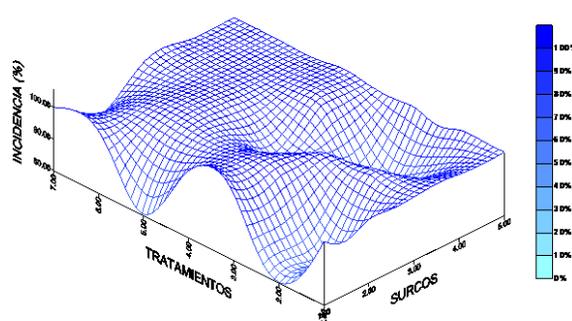
15 de julio



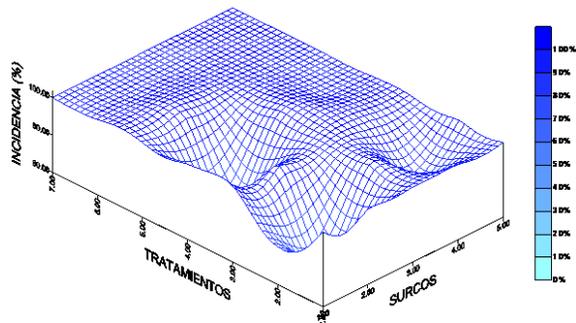
22 de julio



29 de julio



5 de agosto



12 de agosto

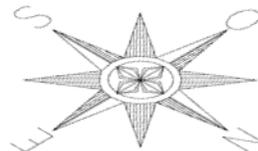


Figura 2.4 Distribución espacio-temporal de la incidencia de virosis en plantas de jitomate cultivadas en invernadero en Zacatepec, Morelos.

Severidad

La severidad de virosis en las plantas evaluadas fue la misma, pero los análisis estadísticos por fecha de evaluación indicaron que en la primera fecha (15 de julio) la severidad fue del

50.5 y 28.5 % en plantas tratadas con miel de abeja y acibenzolar S-metil, respectivamente (Figura 2.5).

En la segunda (22 de julio) y tercera (29 de julio) fechas de evaluación, las plantas tratadas con miel de abeja presentaron los valores más altos de severidad (60.5 %) (Figura 2.5). Adicionalmente, en la tercera fecha de evaluación, las plantas asperjadas con acibenzolar S-metil presentaron el porcentaje de severidad más bajo (35.5 %) (Figura 2.5).

El 5 y 12 de agosto, la severidad de las plantas sometidas a los diferentes tratamientos con respecto a las plantas testigo fue la misma.

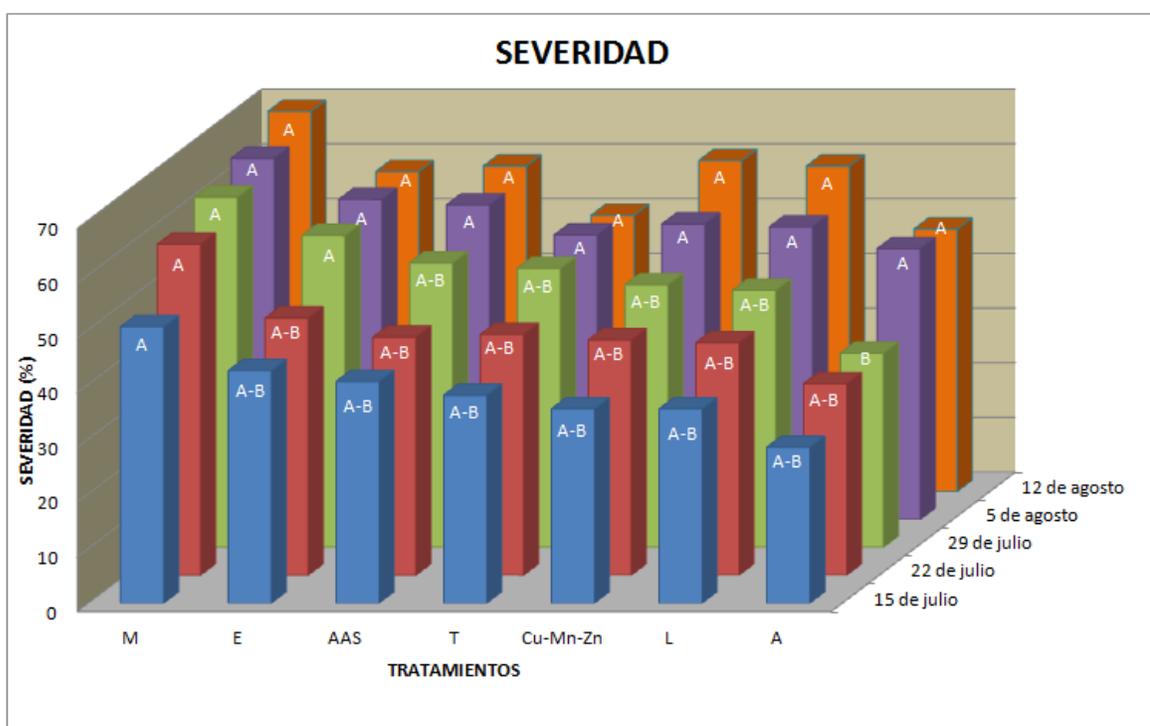
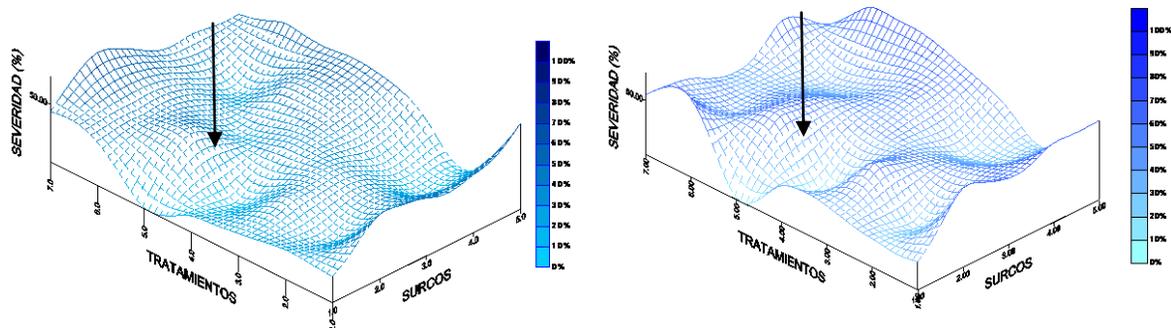


Figura 2.5 Porcentaje de severidad de virosis en plantas de jitomate asperjadas independientemente con miel de abeja (M), acibenzolar S-metil (A), ácido acetil salicílico (AAS), extracto de clavo (E), cobre-manganeso-zinc (Cu-Mn-Zn) y levadura (L). Testigo comercial (T). Cada barra representa el promedio de 25 plantas evaluadas. Para cada tratamiento, barras con diferente letra son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$).

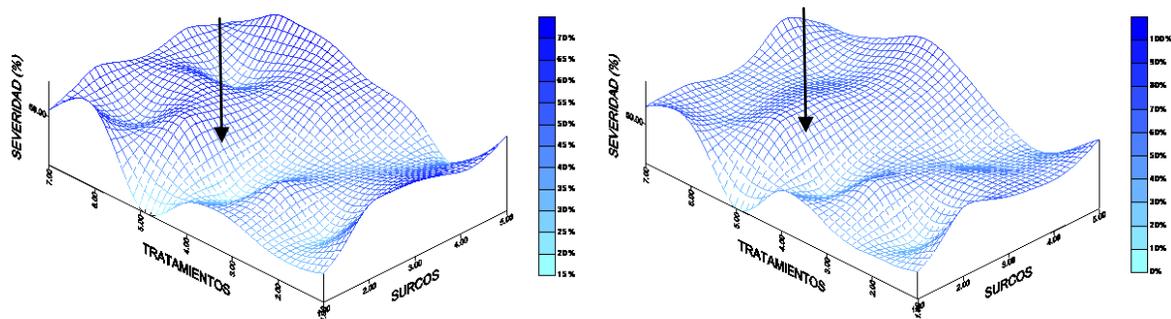
Los mapas espacio-temporales en las cinco fechas de evaluación mostraron que la severidad aumentó de forma paulatina conforme avanzó el ciclo del cultivo (Figura 2.6).

Cuando se comparó una misma área de los mapas espacio-temporales, desde la fecha uno a la fecha cinco, se observó un incremento gradual de la severidad.



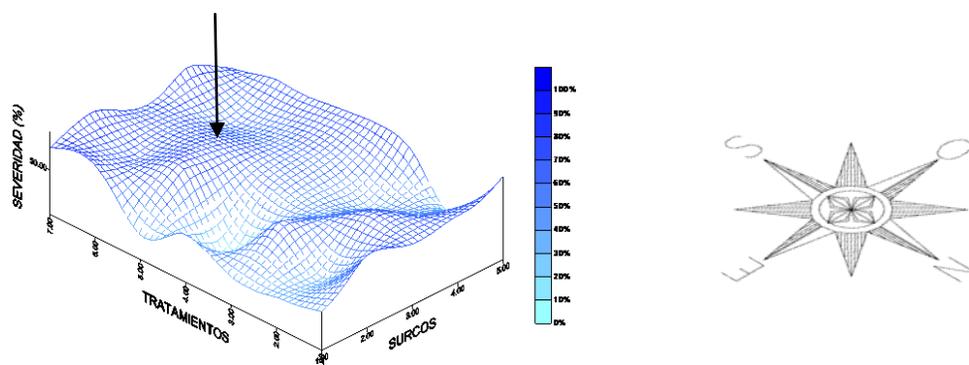
15 de julio

22 de julio



29 de julio

5 de agosto



12 de agosto

Figura 2.6 Distribución espacio-temporal de la severidad de virosis de plantas de jitomate cultivadas en invernadero en Zacatepec, Morelos. Las flechas indican una misma área de la parcela experimental en distintas fechas de evaluación para comparar el progreso de la severidad.

Altura de planta

No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados. La mayor y menor altura registradas fueron de 172 y 91.2 cm, y el promedio al final de las evaluaciones fue de 127 cm.

Rendimiento

Los resultados mostraron que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos evaluados. El rendimiento mínimo (31.5 kg m^{-2}) se obtuvo de las plantas tratadas con el extracto de clavo, mientras que las plantas tratadas con cobre-manganeso-zinc presentaron el mayor rendimiento con 37.6 kg m^{-2} al final del ciclo del cultivo.

Población de mosca blanca

Después de las 5 evaluaciones, no se encontraron diferencias significativas entre plantas asperjadas con el extracto de clavo y las plantas testigo. Sin embargo, el análisis estadístico por cada fecha de evaluación indicó que en el 5 de agosto, las plantas tratadas con extracto de clavo mostraron el menor nivel de infestación, con un promedio de 9 moscas/planta (Figura 2.7).

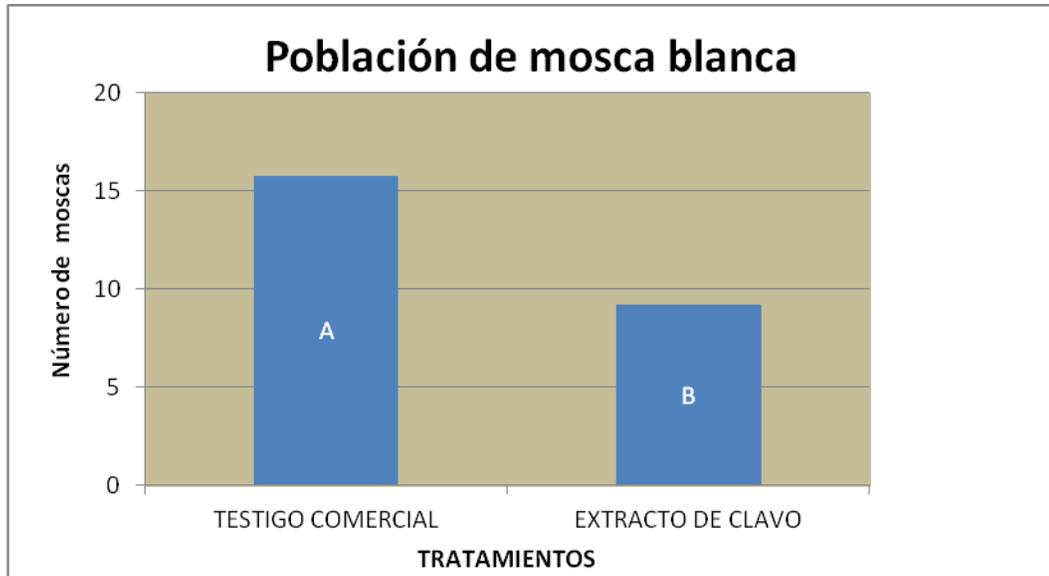
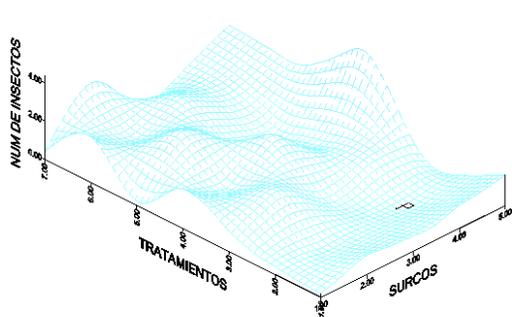
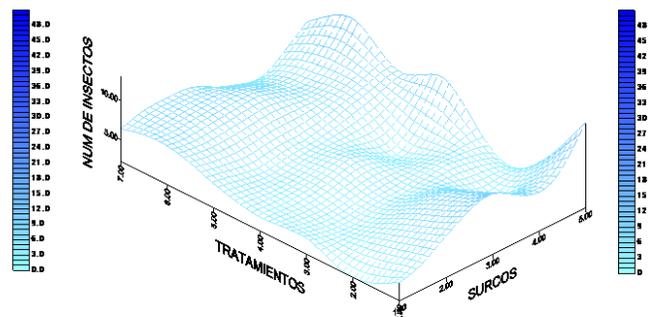


Figura 2.7 Número de moscas blancas (*Bemisia tabaci*) en hojas de jitomate tratadas con extracto de clavo. Cuarta fecha de evaluación (5 de agosto). Cada barra representa el promedio del número de moscas presentes en el envés de las hojas de cinco plantas. Para cada tratamiento, barras con letra diferente son estadísticamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$).

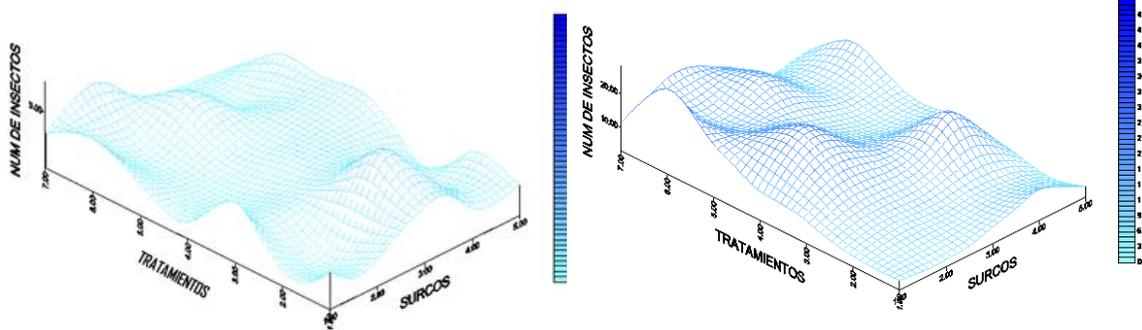
La población de mosca blanca en las cinco fechas evaluadas aumentó progresivamente a lo largo del tiempo, y aún cuando no se observó un patrón definido en sus distribución, la mayor cantidad de individuos se presentó en los límites del lote experimental en cada fecha evaluada (Figura 2.8).



15 de julio

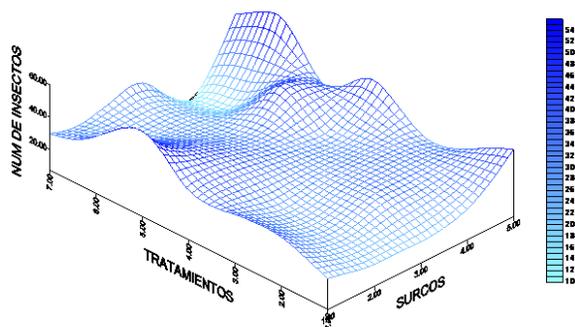


22 de julio



29 de julio

5 de agosto



12 de agosto

Figura 2.8 Distribución espacio-temporal de mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en plantas de jitomate cultivadas en invernadero en Zacatepec, Morelos.

Análisis de correlación

No se encontró correlación entre las variables evaluadas.

Análisis económico

La mejor relación beneficio/costo se presentó en las plantas de jitomate tratadas con ácido acetil salicílico y levadura, mientras que las tratadas bajo los criterios del productor (testigo comercial) mostraron la relación más baja (Cuadro 2.2).

Cuadro 2.2. Relación beneficio/costo (B/C) del cultivo de jitomate sometido a diversos tratamientos bajo condiciones de invernadero en el municipio de Zacatepec, Morelos.

Tratamiento	Rendimiento (kg)	Ingreso bruto	Costo de productos	Rentabilidad	B/C
Testigo	33.66	\$ 403.92	\$ 181.76	\$ 222.16	1.22
Miel	33.52	\$ 402.27	\$ 39.36	\$ 362.91	9.22
Levadura	31.51	\$ 378.12	\$ 4.47	\$ 373.65	83.59
Ácido acetil salicílico	36.63	\$ 439.62	\$ 6.72	\$ 432.9	64.41
Extracto de clavo	31.53	\$ 378.42	\$ 26.56	\$ 351.86	13.24
Acibenzolar S-metil	32.02	\$ 384.34	\$ 82.33	\$ 302.01	3.66
Cu-Mn-Zn	37.62	\$ 451.5	\$ 15.5	\$ 436	28.12

DISCUSIÓN

Incidencia

En la primera fecha de evaluación, las plantas tratadas con levadura presentaron la menor incidencia de síntomas virales, lo cual coincide con los resultados observados en plantas de crisantemo en donde la incidencia de virosis fue menor en plantas tratadas con levadura con

respecto al testigo comercial (Valencia, 2011). De igual forma, Ruvalcaba (2008), reportó que en calabacita no se detectó al CMV en plantas inoculadas con el virus y asperjadas semanalmente con levadura.

Además de los reportes que se tienen sobre el efecto de la levadura sobre la disminución de la incidencia de las enfermedades virales, también se ha demostrado que este producto puede reducir la incidencia y severidad de antracnosis en sorgo, o de la roya en el cultivo de café (Piccin *et al.*, 2005; Passador *et al.* 2008).

Al parecer, la levadura no tiene un efecto directo sobre los patógenos, sino sobre el sistema de defensa de la planta (Kloepper *et al.*, 2004). Es posible que los productos del metabolismo de la levadura sean reconocidos por la planta como moléculas que activan el sistema de defensa de la planta (Wainwrith, 1995).

Severidad

Las plantas asperjadas con el acibenzolar S-metil (ASM) mostraron menor severidad durante las primeras tres fechas de evaluación; sin embargo, al final del ciclo del cultivo todos los tratamientos fueron estadísticamente similares, las plantas mostraron un porcentaje de severidad promedio del 58 %.

El ASM no tiene actividad directa sobre el patógeno, pero induce en el hospedante una serie de procesos bioquímicos que le confieren resistencia (Cole, 1999). Se demostró que en jitomate reduce la severidad de bacteriosis provocada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* y *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Louws *et al.*, 2001). En plantas de tabaco asperjadas con este producto, a partir de las 4 semanas después del trasplante, no tuvo ningún efecto en la incidencia del TSWV, ni en el tamaño o rendimiento de las plantas en relación con parcelas no tratadas (Csinos y Pappu, 2001), lo que concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio. Sin embargo, estos resultados sugieren que la forma de reducir la incidencia y la severidad de la enfermedad es mediante aplicaciones

antes del trasplante, ya que cuando los virus infectan en etapas fenológicas tempranas pueden reducir la producción hasta en un 100 % (Rubio, 2001).

La severidad de los síntomas en las plantas de jitomate asperjadas con miel de abeja fue estadísticamente igual en las distintas fechas de evaluación, pero mayor a la que presentaron las plantas tratadas independientemente con el resto de los tratamientos. Estos resultados difieren de lo reportado por Enríquez (2000), quien observó que hubo un incremento en el diámetro de tallo, altura, área foliar y vigor de plantas de jitomate asperjadas con miel de abeja al 2 %; sin embargo, no menciona la presencia de virosis, factor que podría disminuir el efecto del tratamiento.

Ruvalcaba (2008), reportó que las plantas de calabacita inoculadas con el CMV y asperjadas con miel de abeja y *S. cerevisiae* presentaron el mayor peso de biomasa y resultaron negativas al virus. Con aspersiones de ácido acetil salicílico, las plantas tuvieron menor peso de biomasa y fueron positivas al CMV.

Ramírez *et al.* (2006), aplicó miel de abeja y ácido acetil salicílico en plantas de jitomate inoculadas con el TSWV, y observó que después de la inoculación ninguno de los tratamientos tuvo efecto sobre la movilidad del virus, pero sí sobre su concentración.

Es posible que las respuestas observadas entre los resultados obtenidos en la presente investigación y los reportados en la literatura puedan deberse a diferencias en las especies y cultivares evaluados, a que las infecciones fueron naturales (y no bajo condiciones controladas como en los anteriores casos), a la alta presión del patógeno durante todo el ciclo del cultivo, o a las diferencias ambientales en las que se llevaron a cabo las investigaciones.

Cuando se analizaron los mapas espacio temporales del progreso de la severidad en las distintas fechas de evaluación (Figura 2.6), se observó que hubo áreas en donde disminuyó el porcentaje de severidad, lo que no parece lógico, ya que la severidad aumenta en plantas infectadas en etapas tempranas. Ésto pudo deberse a la forma en como se elaboró la escala

de severidad, ya que al aumentar la altura de la planta, la superficie dañada disminuyó en relación con el total, es decir, la altura de la planta y el porcentaje de área dañada no fueron directamente proporcionales.

En general, las plantas que se trataron con los agroquímicos e insecticidas utilizados en la zona de estudio (testigo comercial), presentaron valores de incidencia y severidad estadísticamente similares a las plantas tratadas con miel de abeja, levadura, ácido acetil salicílico, acibenzolar S-metil, y cobre-manganeso-zinc. El costo de los productos alternativos utilizados en este trabajo fueron menores a los utilizados por el productor, lo cual concuerda con lo observado por Valencia (2011), quien concluyó que aplicaciones de miel, levadura y *Tichoderma* resultaron mucho más rentables como alternativa a los productos químicos en el manejo de plagas en el cultivo de crisantemo.

Altura de plantas y rendimiento

A pesar de que se ha observado que los virus CMV, TSWV, PVY, TEV, TBCV y TAV, causan el achaparramiento de la planta de jitomate (Rodríguez, *et al.*, 1997; Smith, 1972; Hollings y Stone, 1971), en la presente investigación no se encontraron diferencias en la altura de las plantas tratadas con miel de abeja, levadura, ácido acetil salicílico, acibenzolar S-metil, cobre-manganeso-zinc y extracto de clavo, y las tratadas según las recomendaciones del productor. Esta respuesta pudo deberse a que la infección se presentó de forma general y en etapas muy tempranas del desarrollo del cultivo, lo que pudo afectar o disminuir los efectos de la aplicación de productos alternativos.

El rendimiento tiene una relación directa con la altura de las plantas. Al presentarse menor altura también hay una reducción del área foliar, lo que ocasiona menor vigor de la planta, y menor cantidad de flores y frutos; y si hay frutos, no tienen un desarrollo normal (Domínguez *et al.*, 2002).

En el presente trabajo, no se observaron diferencias en rendimiento con aplicaciones de miel, lo cual no concuerda con lo reportado por Enríquez (2000), quien encontró que

aplicaciones semanales de este mismo producto en jitomate dieron mayor vigor a las plantas, mayor peso de biomasa y elevaron el rendimiento. De igual forma, las aplicaciones de miel mejoraron el desarrollo de tomate de cáscara y calabacita, y disminuyeron los daños ocasionados por plagas (Aquino, 2005). Sin embargo, en los casos anteriores las aspersiones se realizaron después de la germinación y no se reportó una alta incidencia de virosis, lo que sugiere que las infecciones virales tempranas, situación observada en la presente investigación, afectan de manera drástica el rendimiento del cultivo (Csinos y Pappu, 2001).

Población de mosca blanca

El extracto de clavo no tuvo un efecto significativo en la disminución de la población de mosca blanca, y aún cuando en la fecha 4 redujo el número de moscas en comparación con el testigo, este extracto no funcionó como repelente de insectos, ya que los resultados estadísticos mostraron que este tratamiento tuvo la misma eficacia que el testigo. Rodríguez *et al.* (2009), encontró que el aceite de canela y tomillo fueron los más eficientes comparados con el aceite de clavo como repelentes de mosca blanca y araña roja en el cultivo de jitomate.

En las fechas 4 y 5 hubo un incremento considerable (en relación con las tres fechas anteriores) de mosca blanca a pesar de que el productor aplicó insecticidas para su control. Este aumento pudo estar relacionado con el incremento de la temperatura, la cual acelera el crecimiento y la reproducción de estos insectos (Garzón, 1987).

Al analizar la distribución espacial de la mosca blanca, se encontró que la infestación inició en los bordes del invernadero, particularmente cerca de la puerta, en el lado sur. De acuerdo con Cohen *et al.* (1982), *B. tabaci* tiene el hábito de colonizar los cultivos progresivamente de los bordes de la plantación hacia el interior, por lo que la dispersión de algunos virus transmitidos por este insecto comienzan de los bordes del campo hacia el interior; situación que se observó en este trabajo, ya que los primeros síntomas de virosis aparecieron en los

bordes y se extendieron hacia el centro del experimento (Figura 2.4). De igual forma, la severidad mostró el mismo patrón de distribución (Figura 2.6).

Correlación de los parámetros evaluados

Si bien se ha reportado que un solo insecto es capaz de transmitir un virus a varias plantas, provocando un incremento en la incidencia y la severidad de la enfermedad (Rodríguez *et al.*, 1997), los resultados obtenidos en la presente investigación sugieren que la presencia de mosca blanca pudo no estar relacionada con la incidencia y severidad de virosis en las plantas de jitomate, por lo que es posible que la transmisión de virus haya ocurrido por semilla, transmisión mecánica u otro vector.

Se sabe que virus como el *Chino del tomate virus* (CdTV), el cual fue reportado originalmente en Sonora y Sinaloa, pudo haber sido diseminado por el traslado de semilleros a otros estados del país (Polston y Anderson, 1999). En otro estudio, en plantas de jitomate con síntomas de virosis y presencia de mosca blanca, se observó que este insecto no siempre está relacionado con la transmisión de virus, ya que se encontró al *Tobacco ring spot virus* (TRSV), el cual es transmitido por un nematodo (Fulton, 1962).

Análisis económico

El uso de insecticidas es la práctica más utilizada y constituye el enfoque más costoso para el manejo preventivo de virus. Muchos insecticidas, aceites y jabones se utilizan para reducir las poblaciones de insectos en condiciones de invernadero y campo (Shuster *et al.*, 1993); sin embargo, muchos de estos productos no tienen buen control, y si lo tienen incrementan los costos de producción.

En el presente estudio, las plantas asperjadas con los agroquímicos utilizados por el productor no presentaron diferencias en severidad e incidencia de virosis con respecto al uso de productos alternativos. Sin embargo, al tener el mismo efecto se puede optar por el uso de los productos alternativos debido que son más baratos, fáciles de adquirir, su impacto en el ambiente es menor y no representan riesgo en su manejo y aplicación.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones evaluadas, las plantas de jitomate tratadas con levadura en las primeras tres fechas de evaluación presentaron la menor incidencia de virosis.

Las plantas de jitomate tratadas con Acibenzolar S-metil presentaron la menor severidad en las evaluaciones del 15 y 29 de julio.

La aplicación de productos alternativos no tuvo efecto sobre la altura de las plantas de jitomate.

El rendimiento de las plantas asperjadas con productos alternativos y el de las plantas tratadas con los agroquímicos usados por el productor fue estadísticamente igual.

Bajo las condiciones evaluadas, el extracto de clavo no tuvo efecto repelente contra la mosca blanca en el cultivo de jitomate.

Los tratamientos de levadura y ácido acético salicílico tuvieron la mayor relación beneficio/costo.

LITERATURA CITADA

- Agrios G., N. 2008. Fitopatología. 2a edición. Editorial Limusa. México. 856 p.
- Aquino H., O. 2005. Distribución de virus y efecto del ácido acetil salicílico y compuestos orgánicos en la severidad de virosis y roya blanca en tres variedades de crisantemo [*Dendranthema morifolium* (Ramat) Fzvelev]. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo. México. Pp 60-64.
- Camacho L., M. 2005. Alternativas para disminuir los problemas de insectos vectores y la incidencia de virosis en calabacita. Tesis de licenciatura. Colegio Superior Agropecuario del estado de Guerrero. Guerrero, México. Pp: 18-24
- Cohen J., Gera A., Ecker R., Ben-Joseph R., Perlsman M., Gokkes M., Lachman O. and Antignus Y. 1982. Lisianthus leaf curl a new disease of lisianthus caused by tomato yellow leaf curl virus. *Plant Disease*. 79: 416-420.
- Cole D., L. 1999. The efficacy of Acibenzolar-S-methyl, an inducer of systemic acquired resistance, against bacterial and fungal diseases of tobacco. *Crop Protection*. 18: 267-273.
- Conti, M., D., Gallitelli, V., Lisa O., Lovisolo P., Martelli A., Ragozzino G., Rana L., y Vovlas C. 2000. Principales virus de las plantas hortícolas. Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España. 206 p.
- Csinos A., S. and R. Pappu H. 2001. Management of tomato spotted wilt virus in flue-cured tobacco with acibenzolar s-methyl. *Plant Disease*. 85: 292-296.
- Domínguez T., A., E. García P., J.E. Pacheco V., J.A. Villanueva J. y D. Téliz O. 2002. Control de mosquita blanca y virosis en jitomate con cubierta flotante en Veracruz. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 25: 311-316.

- Enríquez M., A. 2000. Uso de la miel de abeja en la producción de jitomate y chile. Tesis de Maestría. Colegio de Posgraduados. Montecillo, México. Pp:1-6.
- Fulton J., P. 1962. Transmission of tobacco ringspot virus by *Xiphinema americanum*. Ediciones Plenum Press, N. Y. U.S.A. 120 p.
- Garzón T., J.A. 1987. Presencia de virus en los cultivos de chile (*Capsicum annum* L.) y tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en México. Temas en virología II. Sociedad Mexicana de Fitopatología. Pp: 156-181.
- Garzón T., J.A. 2006. Estrategias generales aplicadas al manejo de vectores de virus y fitoplasmas en hortalizas. En: Memoria, Curso enfermedades de hortalizas. Fundación Produce Sinaloa. Pp: 45-54.
- Hollings M, and M. Stone O.. 1971. *Tomato aspermy virus*. Description of plant viruses N. 79. Commonwealth Mycological Institute and the Association of Applied biologist. Kew, Surrey, England. Pp: 1-4.
- Jones J., B., E. Stall E. and T. Zitter A. 2001. Plagas y enfermedades del jitomate. The American Phytopathological Society. Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España. 543 p.
- Kloepper J., W., Choong-Ming R. and Zhang S. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus spp.* In agricultural system. Phytopathology. 94:1259-1266.
- Louws F., J., Willson M. and L. Campbell H. 2001. Field control of bacterial spot and bacterial speck on tomato using a plant activator. Plant Disease. 85:481-488.
- Morales N., A.B. 1994. Evaluación de estrategias para el control de virosis en jitomate en el Cayaco, Gro. Tesis de Licenciatura. Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. Pp: 7-30.

- Passador M., M., F. Barreto M., E. Furtado L. 2008. Efecto inhibitor del extracto acuso de las teliosporas tiloides hongo *Puccinea pampiana* sobre agentes causales de royas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 26:138-146.
- Piccin E., R. Piero M., E. Pascholati S. 2005. Efecto de *Saccharomyces cerevisiae* en productividad de sorgo y en severidad de daños foliares en campo. *Fitopatologia Brasileira*. 30:5-9.
- Polston, J., E. and P. Anderson K. 1999. Surgimiento y distribución de geminivirs transmitidos por mosca blanca en tomate en el hemisferio occidental. *Manejo Integrado de Plagas*. 53: 230-248.
- Ramírez F., J., D.L. Ochoa M., M.N. Rodríguez M., G. Mora A. 2006. Efecto del ácido acetil salicílico, miel y melaza en la movilidad y concentración de TSWV. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*. 12: 239-243.
- Ramírez R., S., F. Osuna G. J.M. Vázquez A., J.D., Bustamante O. J. Canul K. y T. Ocampo O. 2009. Plagas y enfermedades del jitomate cultivado en invernaderos y bioespacios de Morelos. *Campo Experimental Zacatepec, INIFAP. Folleto técnico No. 37. Zacatepec, Mor., México*. 110 p.
- Rodríguez R., R., J. M. Tabares R., y J.A. Medina S. 1997. *Cultivo moderno del jitomate*. 2ª Edición. MundiPrensa. Madrid. España. 255 p
- Rodríguez H., C., L. D. Ortega A., D. Ochoa M. y S. Infante G. 2009. Repelencia de adultos de mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum* West.) con aceites esenciales. *Fitosanidad*. 13:11-14.
- Rodríguez L., E. 1992. Virus que dañan al jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en México y métodos de control: revisión de literatura. Tesis de Licenciatura. *Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México*. Pp: 17-76.

- Rubio C., R. 2001. Análisis espacio temporal de enfermedades virales en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), en la vega de Metztitlan, Hidalgo. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 90 p.
- Ruvalcaba E., S. 2008. Resistencia sistémica a *Cucumber mosaic virus* (CMV) mediante *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cereviceae*, miel y ácido acetil salicílico en calabacita (*Cucurbita pepo* L.) var. Zucchini Grey. Tesis de Licenciatura. Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 41 p.
- Schuster D., J., A. Stansly R., G. Dean D., E. Polston J. y S. Swanson G. 1993. Progress toward a more sustainable pest management program for tomato. Hortscience. 25: 1618-1620.
- Smith K., M. 1972. A textbook of plant virus diseases. 3th Ed. Longman, London, U.K. Pp. 541-544
- Urias M., C. y T. Alejandro A. 1999. Los virus y su impacto en la producción agrícola. In: Hortalizas. Plagas y enfermedades. Ed. Trillas, México, D.F. 544 p
- Valencia L., J.B. 2011. Manejo bio-racional de plagas y enfermedades en crisantemo *Dentranthema grandiflorum* (Ramat.) Kitam. "Harman". Tesis de Maestría. Colegios de Postgraduados. Montecillo, Mexico. 175 p.
- Vanderplank J., E. 1984. Plants; disease and pest resistance. APS Press. Orlando, USA. 194 p.
- Wainwrith M. 1995. Introducción a la biotecnología de los hongos. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 228 p.

CAPÍTULO III. DISTRIBUCIÓN DE VIRUS ASOCIADOS AL CULTIVO DE JITOMATE EN CUATRO MUNICIPIOS DEL ESTADO DE MORELOS

RESUMEN

Se recorrieron zonas productoras de jitomate bajo cubierta en el estado de Morelos (Axochiapan, Mazatepec, Yautepec y Zacatepec) y se hizo un muestreo dirigido a plantas con síntomas de virosis. Se recolectaron hojas, tallos y brotes por cada localidad para describir las alteraciones en cada una de ellas. Se extrajeron ARN y ADN total para determinar la presencia de *Begomovirus*, *Potexvirus*, *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) y *Tobacco mosaic virus* (TMV). Las muestras fueron negativas para *Begomovirus*, *Potexvirus* y TMV. Una muestra de la localidad de Mazatepec fue positiva para el virus TSWV.

Palabras clave: *Solanum lycopersicum*, RT-PCR, PCR, TSWV, *Begomovirus*, *Potexvirus*, TMV.

CHAPTER III. DISTRIBUTION OF VIRUS ASSOCIATED WITH TOMATO IN FOUR DISTRICT COUNCILS OF THE STATE OF MORELOS.

ABSTRACT

We made an inspection journey into protected tomato producing areas in the state of Morelos (Axochiapan, Mazatepec, Yautepec and Zacatepec). Total RNA and DNA were isolated from leaves, stems and buds of tomato plants with viral symptoms in order to determine the presence of *Begomovirus*, *Potexvirus*, *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) and *Tobacco mosaic virus* (TMV). Tomato plants were negative to *Begomovirus*, *Potexvirus* and TMV. Just one sample collected in Mazatepec was positive to TSWV.

Keywords: *Solanum lycopersicum*, RT-PCR, PCR, TSWV, *Begomovirus*, *Potexvirus*, TMV.

INTRODUCCIÓN

En el estado de Morelos, el principal problema fitosanitario de tipo viral que se presenta en jitomate (*Solanum lycopersicum*) cultivado a cielo abierto es el síndrome llamado “chino del tomate”, el cual llega a causar pérdidas totales, principalmente en las siembras del ciclo otoño-invierno. Se ha identificado al *Pepper huasteco yellow vein virus* (PHYVV) como la especie más importante implicada en este síndrome, y al *Pepper golden mosaic virus* (PepGMV) en menor frecuencia, ambos pertenecientes al género *Begomovirus* de la familia Geminiviridae.

También están reportados el *Alfalfa mosaic virus* (AMV), *Tobacco etch virus* (TEV), *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), *Chino del tomate virus* (CdTV) y el *Impatiens necrotic spot virus* (INSV) causando serios daños al cultivo, a tal grado que en algunas zonas productoras la superficie ha disminuido drásticamente, llegando también a restringir el cultivo de especies susceptibles a estos patógenos (Ramírez *et al.*, 2002; Ibáñez *et al.*, 1999; Torres *et al.*, 1996).

En el estado de Morelos, algunas especies de geminivirus, como el TYLCV, *Tomato mottle virus* (ToMoV) y el CdTV, que afectan la producción de jitomate a cielo abierto, no representan un factor limitante en la producción bajo cubierta, ya que mediante pruebas moleculares con PCR se han detectado en porcentajes menores a 10 % (Ramírez *et al.*, 2009).

El *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), que se reportó por primera vez en Sinaloa (Vergudgo, 1989), se encontró asociado con el *Cucumber mosaic virus* (CMV) y *Tobacco mosaic virus* (TMV) en tomate de cáscara y chile, además de presentarse en cultivos de jitomate bajo cubierta en Atlatlahuacán, Totolapan, Tlayacapan, Mazatepec y Yecapixtla, que son las principales zonas productoras de esta hortaliza en Morelos (De la Torre *et al.*, 2007; Ramírez *et al.*, 2001).

El *Pepino mosaic virus* (PepMV) (fam. *Alphaflexiviridae*, gen. *Potexvirus*) se reportó por primera vez en 1980 en el cultivo de pepino (*Solanum muricatum*) en Perú (Jones *et al.*,

1980); y para el 2008 en las principales áreas productoras de jitomate en Europa y Norte América (Kai-Shu *et al.*, 2008). El virus se transmite de forma mecánica, por semilla y por abejorros (*Bombus terrestris* y *B. canariensis*), los cuales son utilizados para la polinización en invernaderos (Van der Vlugt, 2009). Además, se ha detectado en malezas como *Taraxacum* sp., *Plantago* sp., *Chenopodium* sp., *Brassica* sp., *Convolvulus* sp., *Bidens* sp., *Euphorbia* sp., *Amaranthus* sp., y *Malva* sp. (Jones *et al.*, 1980).

El primer antecedente de este patógeno en México fue en 2011 en invernaderos de jitomate en Jocotitlán, Estado de México, en donde las plantas presentaron manchas o mosaicos cloróticos foliares, necrosis en tallos y deformación de frutos (Kai-Shu and Zhang, 2011). Es posible que este virus se encuentre infectando plantas de jitomate en el estado de Morelos, ya que algunos de los síntomas que se observaron en los invernaderos fueron similares a los descritos por Kai-Shu a y Zhang (2011).

Además de los reportes que se tienen sobre la identificación serológica y/o molecular de los virus presentes en el cultivo de jitomate, los insectos vectores son una herramienta importante para relacionar la presencia de un virus. *Bemisia tabaci* y *B. argentifolli*, eficientes transmisores de varias especies del género *Begomovirus* (Ramírez *et al.*, 2002), están reportadas en el estado de Morelos. También están identificadas las especies *Thrips tabaci*, *Frankliniella occidentalis*, *F. tritici* y *F. williamsi*, pero sólo las primeras dos transmiten al TSWV en jitomate, otro virus muy común en México y en el estado de Morelos (Ramírez *et al.*, 2001).

La detección temprana, rápida y precisa de los virus que afectan al cultivo de jitomate en el estado de Morelos contribuirá en el diseño de estrategias de manejo y evitará la dispersión del patógeno. Con base en estos antecedentes, el objetivo de la presente investigación fue identificar los virus asociados a jitomate cultivado bajo cubierta en cuatro municipios del estado de Morelos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Zona de estudio

Las zonas de estudio se localizaron en cuatro municipios del estado de Morelos en donde se produce jitomate bajo cubierta (Figura 3.1).



Figura 3.1 Estado de Morelos. Producción de jitomate bajo cubierta.

Muestreo

Se seleccionó un invernadero por municipio. En cada invernadero se recolectaron hojas y brotes de tres plantas de jitomate con síntomas de virosis.

En los municipios de Mazatepec y Zacatepec las muestras se recolectaron de plantas que presentaron flores y frutos en diferentes etapas de desarrollo; en Axochiapan de plantas que habían producido los primeros frutos comerciales; y en el municipio de Yecapixtla, de plantas adultas.

Extracción de ácidos nucleicos.

De las hojas y tallos de las plantas recolectadas se realizó la extracción de ARN y ADN con Trizol® y PlantDNAzol®, respectivamente, siguiendo el protocolo del fabricante.

La calidad de los ácidos nucleicos se verificó mediante electroforesis en un gel de agarosa al 0.8 % durante 40 min a 90 V.

Identificación Molecular

Se realizaron PCR y RT-PCR para la detección de los siguientes géneros y especies de virus:

Begomovirus

Se hizo PCR con los primers universales para este género siguiendo el protocolo descrito por Cervantes (2005).

Como testigo positivo se utilizó el ADN total de una planta de jitomate infectada con el PHYVV.

Tamaño esperado del producto: 750 pares de bases (pb).

Tomato spotted wilt virus

Para la detección del TSWV se utilizaron los primers y el protocolo reportados por Morris (2001).

Tamaño esperado del producto: 500 pb.

Se utilizó como testigo positivo el ARN total de una planta de chile infectada con este virus.

Potexvirus

Se hizo RT-PCR con los primers universales y el protocolo publicados por Van der Vlugt y Berendsen (2002).

Tamaño esperado del producto: 500 pb.

Para esta detección no se incluyó testigo positivo, debido a que no se tuvo material vegetal infectado con algún miembro de este género de virus.

Tobacco mosaic virus

Para la detección del TMV se utilizaron los primers y el protocolo publicados por De la Torre, *et al.* (2007).

Tamaño esperado del producto: 250 pb.

Como testigo positivo se utilizó el ARN total de una planta de tabaco infectada con el TMV.

En todas las amplificaciones se utilizó agua como control negativo

Los productos de PCR RT-PCR se verificaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2 % durante 45 min a 90 V.

Los amplicones correspondientes al tamaño del fragmento esperado se purificaron con el kit comercial Wizard PCR clean-up system® siguiendo el protocolo del fabricante, y se mandaron a secuenciar al Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

RESULTADOS

Muestreo

En el invernadero localizado en Zacatepec, se observó alta población de mosca blanca y algunos frutos con daños causados por trips.

Las plantas de jitomate presentaron síntomas foliares como amarillamiento, enrollamiento, mosaico y manchas rojizas (Figura 3.2).

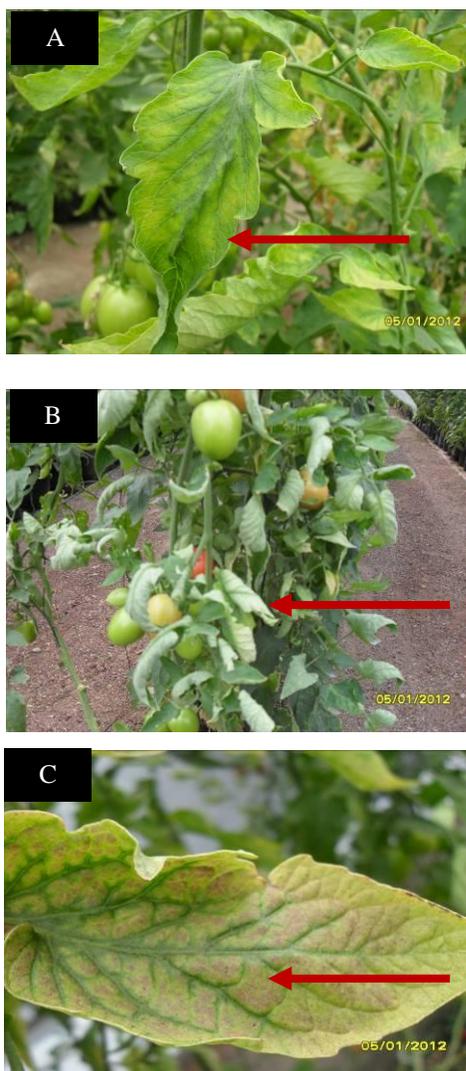


Figura 3.2 Plantas de jitomate con síntomas de virosis en Zacatepec, Morelos. Amarillamiento foliar (A), enrollamiento (B) y mosaico de manchas rojizas (C).

En Mazatepec, se observaron altas poblaciones de trips y mosca blanca en el envés de las hojas. Los síntomas más comunes fueron amarillamiento y deformación de hojas, achaparramiento y daño por trips en los frutos (Figura 3.3).

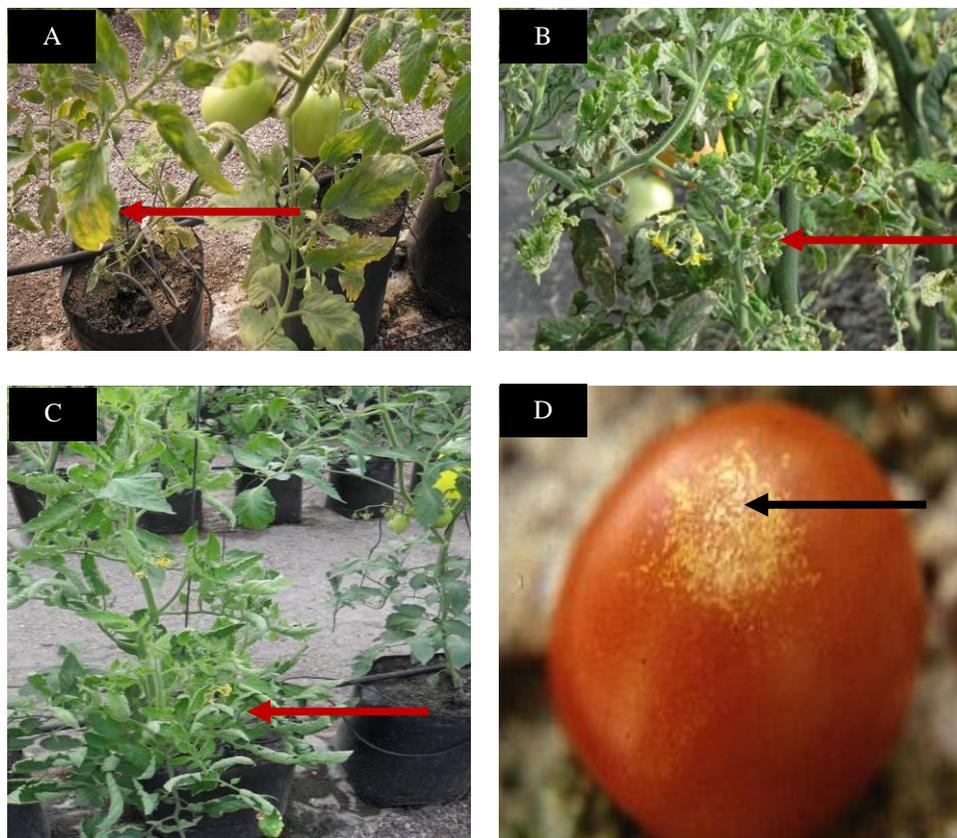


Figura 3.3 Plantas de jitomate con síntomas de virosis en Mazatepec, Morelos. Clorosis. (A), deformación de hojas (B), achaparramiento (C) y daño por trips en fruto (D).

En el invernadero de Axochiapan, se observó poca incidencia de virosis, no hubo maleza en los pasillos pero sí fuera del invernadero. Los síntomas más comunes en las plantas de jitomate fueron mosaico y achaparramiento (Figura 3.4).

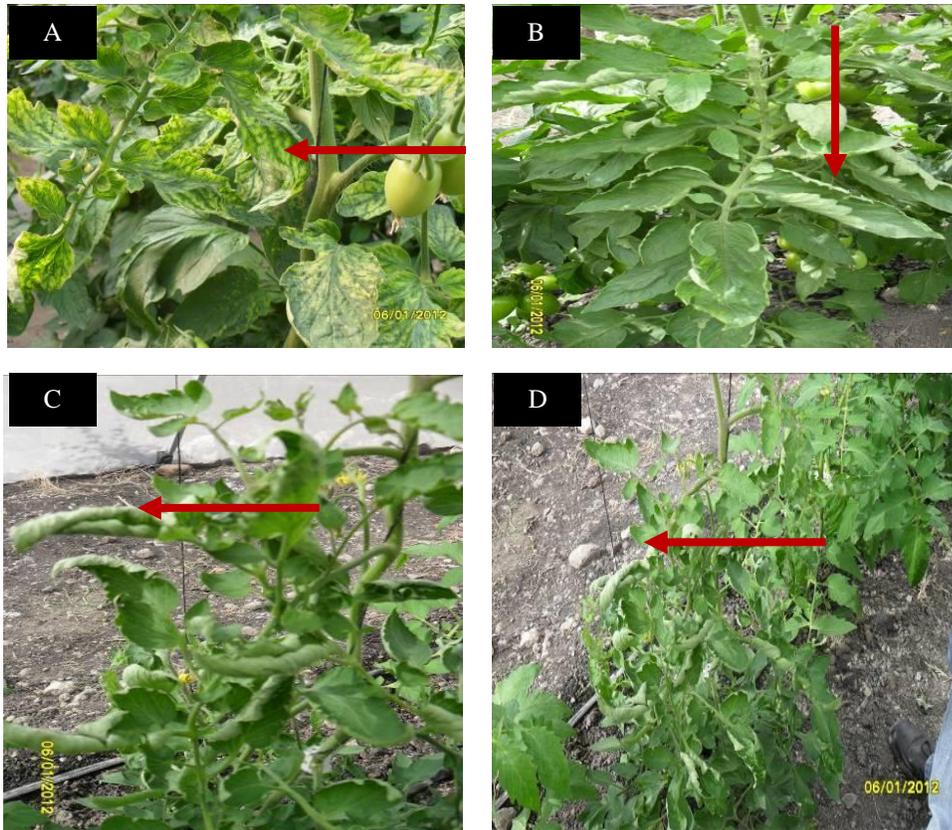


Figura 3.4 Plantas de jitomate con síntomas de virosis en Axochiapan, Morelos. Mosaico (A), distorsión de hojas (B y C), enrollamiento de hojas y achaparramiento (D).

En Yecapixtla, se observó alta incidencia de virosis. Los síntomas más comunes fueron mosaicos, manchas cloróticas y rojizas y enrollamiento foliar (Figura 3.5). También se observaron frutos maduros y hojas en pasillos (probablemente debido a podas), altas poblaciones de mosca blanca y algunas plantas marchitas.

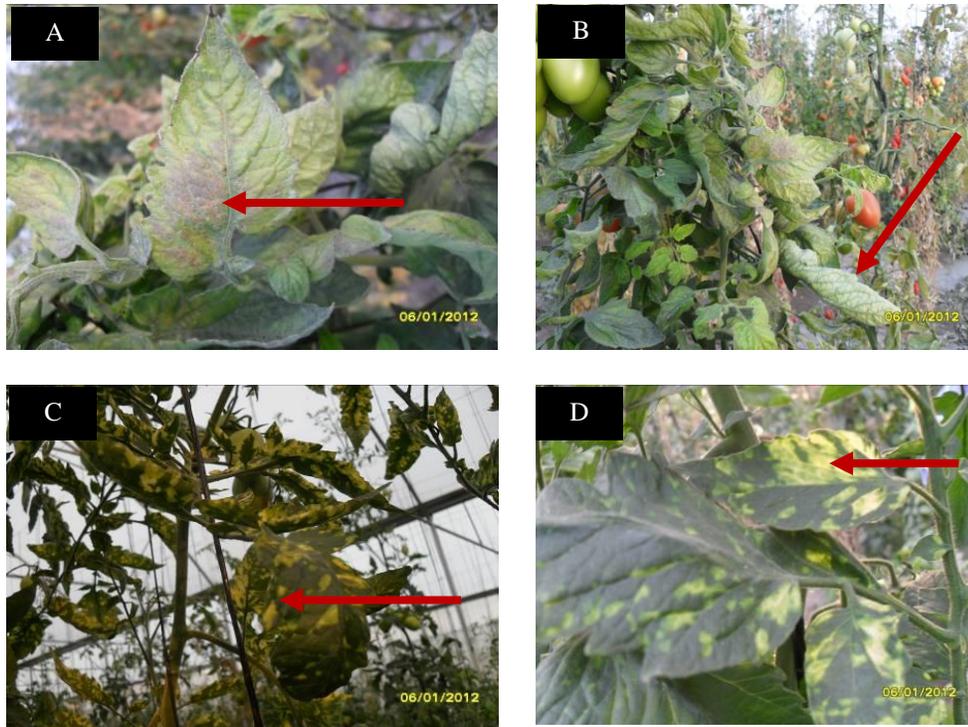


Figura 3.5 Plantas de jitomate con síntomas de virosis en Yecapixtla, Morelos. Manchas rojizas foliares (A), enrollamiento de hojas (B), mosaico y manchas cloróticas (C y D).

Identificación molecular

Begomovirus

Ninguna de las muestras analizadas estuvo infectada con *Begomovirus*, a excepción del testigo positivo, en donde los primers amplificaron una banda de aproximadamente 750 pb (Figura 3.6). Hubo amplificaciones inespecíficas de alrededor de 100 pb.

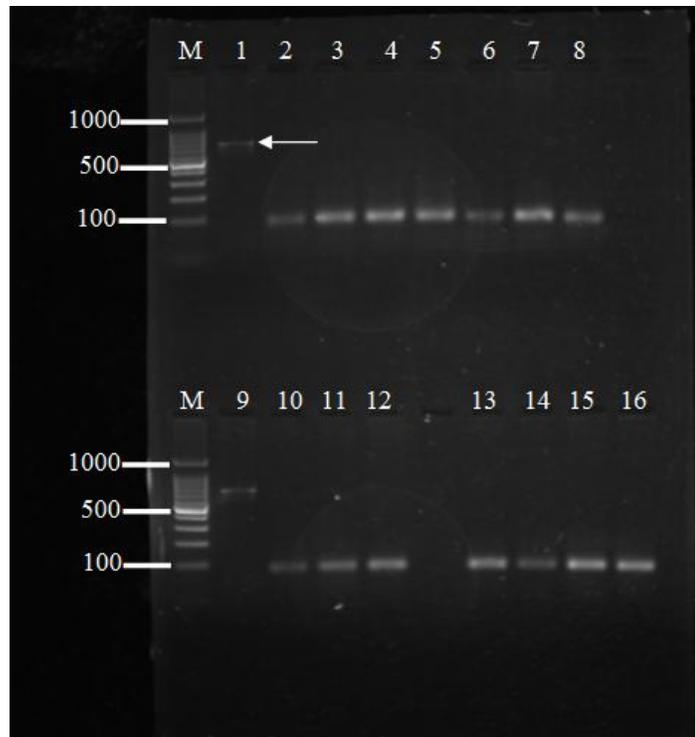


Figura 3.6 Productos de amplificación de PCR para detección de *Begomovirus*. Marcador de peso molecular Invitrogen® de 100 pb (M), testigo positivo (1 y 9), testigo negativo (2 y 10). Carriles 3,4 y 5: muestras de Axochiapan. Carriles 6,7 y 8: muestras de Mazatepec. Carriles 11, 12 y 13: muestras de Yautepec. Carriles 14, 15 y 16: muestras de Zacatepec.

Tomato spotted wilt virus

Solo una de las muestras obtenidas del invernadero de Mazatepec fue positiva para el TSWV. Los primers amplificaron una banda de aproximadamente 500 pb (Figura 3.7), cuya secuencia tuvo 100 % de similitud con la secuencia del TSWV registrada en el GenBank con número de acceso FR603074.1.1.

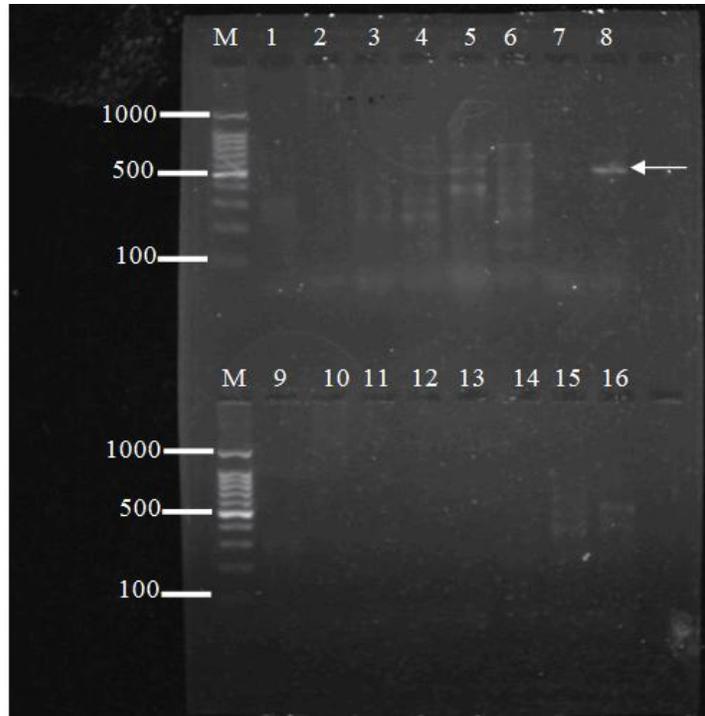


Figura 3.7 Productos de amplificación de RT-PCR para detección de TSWV. Marcador de peso molecular Invitrogen® de 100 pb (M), testigo positivo (1 y 9), testigo negativo (2 y 10). Carriles 3,4 y 5: muestras de Axochiapan. Carriles 6, 7 y 8: muestras de Mazatepec. Carriles 11, 12 y 13: muestras de Yautepec. Carriles 14, 15 y 16: muestras de Zacatepec. La flecha en el carril 8 indica que esa muestra amplificó el tamaño de banda esperado.

Potexvirus

Ninguna de las plantas analizadas estuvo infectada con *Potexvirus*. En algunas de las muestras colectadas de los invernaderos de Axochiapan, Mazatepec y Zacatepec se obtuvieron amplicones de aproximadamente 500 pb (Figura 3.8), pero los resultados de la secuenciación no correspondieron a ningún miembro del género en cuestión.

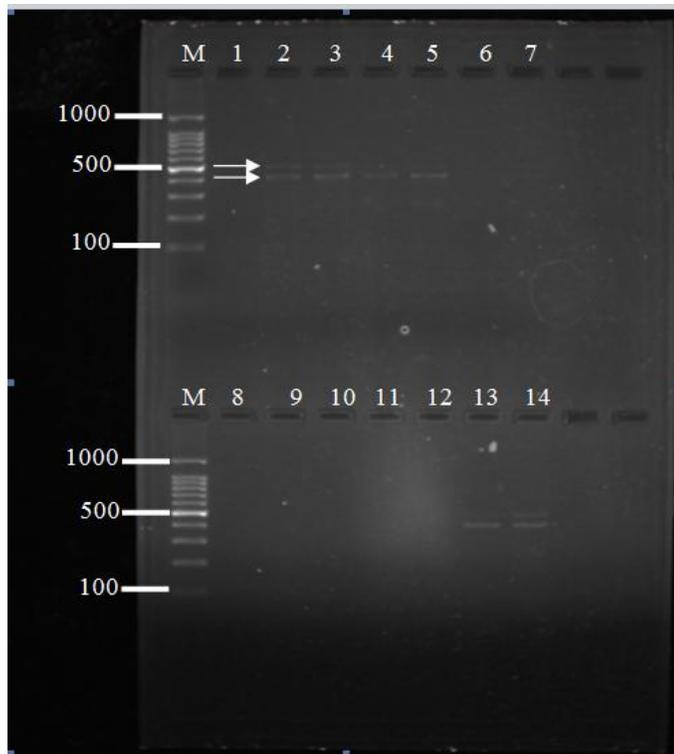


Figura 3.8 Productos de amplificación de RT-PCR para detección de *Potexvirus*. Marcador de peso molecular Invitrogen® de 100 pb (M), testigo negativo (2 y 8). Carriles 2,3 y 4: muestras de Axochiapan. Carriles 5,6 y 7: muestras de Mazatepec. Carriles 9, 10 y 11: muestras de Yautepec. Carriles 12, 13 y 14: muestras de Zacatepec.

Tobacco mosaic virus

La prueba de RT-PCR para determinar la presencia del TMV fue negativa para todas las muestras de jitomate analizadas (Figura 3.9).

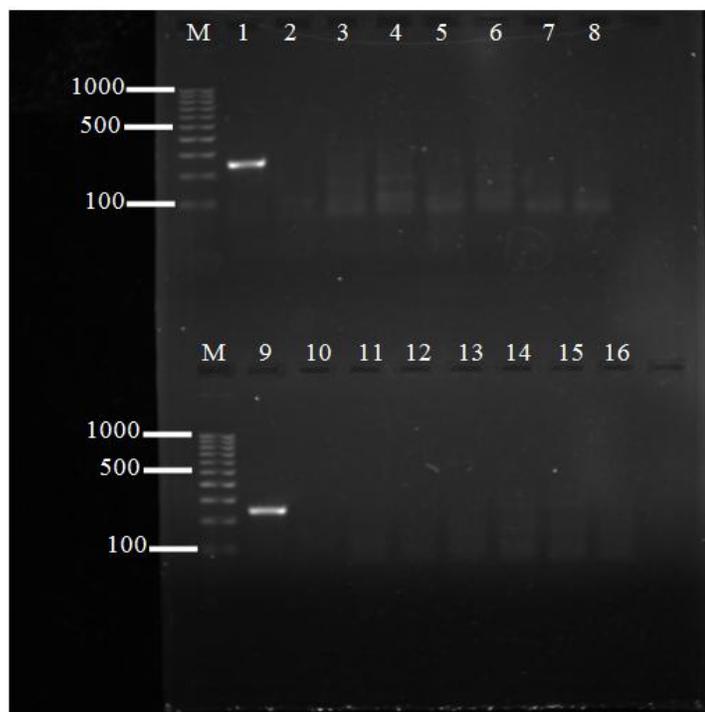


Figura 3.9 Producto de amplificación de RT-PCR para detección del TMV. Marcador de peso molecular Invitrogen® de 100 pb (M), testigo positivo (1 y 9), testigo negativo (2 y 10). Carriles 3,4 y 5: muestras de Axochiapan. Carriles 6,7 y 8: muestras de Mazatepec. Carriles 11, 12 y 13: muestras de Yautepec. Carriles 14, 15 y 16: muestras de Zacatepec.

DISCUSIÓN

Los síntomas más comunes que se encontraron en plantas de jitomate evaluadas fueron achaparramiento, mosaico, deformación y amarillamiento foliar, y coloración púrpura o marrón en el envés de las hojas; todos ellos considerados como los síntomas típicos de plantas infectadas por virus (Agrios, 2008)

Aún cuando las plantas muestreadas presentaron síntomas similares a los inducidos por algunas especies del género *Begomovirus*, como el *Chino del tomate virus* (CdTV), el cual causa acortamiento de entrenudos, achaparramiento, disminución del área foliar, clorosis y deformación de hojas (Guevara *et al.*, 1999; Conti *et al.*, 2000); y que el *Pepper golden mosaic virus* (PepGMV), *Tomato mottle virus* (ToMoV) y el *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) están reportados en las regiones donde se llevó a cabo la presente investigación y

se transmiten principalmente por mosca blanca (Perring *et al.*, 1993), no se detectó su presencia en ninguna de las plantas de jitomate recolectadas en los invernaderos evaluados. En ocasiones, la asociación de un virus con los síntomas de una planta resulta poco práctica debido a que su expresión es altamente dependiente del genotipo del hospedante, de las condiciones ambientales y/o de la ocurrencia de infecciones múltiples (Faría y Nava, 2009). Además, en algunos casos se presentan síntomas por fitotoxicidad ocasionada por mosca blanca y que son parecidos a los inducidos por virus (Bedford *et al.*, 1994).

Los *Carlavirus*, *Lutteoivirus*, *Nepovirus*, *Potyvirus* y *Closterovirus*, que también son transmitidos por mosca blanca, inducen en jitomate síntomas similares a los inducidos por *Begomovirus* (Dardón *et al.*, 1994). Todos estos factores podrían explicar que los resultados de PCR en la presente investigación fueran negativos. Además, es posible que en caso de haber estado infectadas, los virus se hayan movido hacia el sistema radical de las plantas, por lo que se pudo haber tenido un falso negativo porque el diagnóstico se hizo únicamente con tejido aéreo. Por otro lado, constantemente surgen nuevos *Begomovirus* que no pueden amplificarse utilizando primers genéricos (Fiallo *et al.*, 2009). En ocasiones se presentan en campo complejos virales, lo cual imposibilita asociar una sintomatología específica con alguno de los virus en particular, y no se puede determinar con precisión que virus está presente al estar frente al síntoma (un solo virus o un complejo viral pueden ocasionar una sintomatología similar) (Pérez *et al.*, 2008). Además esta situación se ve afectada por el estado fisiológico del cultivo, la relación virus-cultivar y la condiciones ambientales (Baez, 2000)

Una de las plantas recolectadas en el municipio de Mazatepec resultó positiva al TSWV, lo que corrobora lo reportado por De la Torre (1996) en jitomate en el estado de Morelos.

Uno de los síntomas más comunes que presentan las plantas infectadas con este virus es un bronceado foliar con numerosas y pequeñas manchas oscuras, lo cual no coincidió con los síntomas de amarillamiento y distorsión foliar que presentó la planta evaluada. Sin embargo, como se ha mencionado anteriormente, los síntomas que induce el TSWV son extremadamente variables y dependerán de la especie (incluso de la variedad) afectada, del

estado del desarrollo de la planta al momento de la infección y de las condiciones ambientales que ocurran durante el desarrollo de la enfermedad (Velázquez *et al.*, 2009)

En el invernadero de Mazatepec se observaron frutos de jitomate con daños causados por trips, y considerando que el TSWV se transmite de planta a planta por las especies *Frankliniella occidentalis*, *F. fusca* y *Trips tabaci* (Rosello y Nuez, 1977), es posible que su presencia pueda corroborar los resultados moleculares. Sin embargo, queda por identificar las especies que se observaron en el sitio de muestreo.

En el Municipio de Zacatepec también se observaron daños por trips, pero el diagnóstico para el TSWV fue negativo. Es posible que este resultado se haya debido a que las muestras recolectadas se analizaron con primers específicos que no detectan la presencia de otras especies del género *Tospovirus*, como el *Impatiens necrotic spot virus* (INSV), el cual tiene también como hospedante al jitomate y se transmite por trips. Además, este virus se ha detectado con una incidencia del 33 % en los principales municipios productores de jitomate en el estado de Morelos (Atlatlahucán, Totolapan, Zacatepec, Jojutla y Tlaquiltenango) (Ramírez *et al.*, 2001).

En las localidades de Mazatepec y Yecapixtla se observaron plantas de jitomate con manchas de coloración marrón muy similares a las inducidas por *Potexvirus*; pero estos patógenos no se identificaron en ninguna de las muestras analizadas. Es posible que se trate del *Potato virus Y* (PVY), ya que la coloración rojiza es uno de los síntomas característicos que induce este patógeno (Uexkull, 1978), y aunque no se ha reportado en jitomate en el estado de Morelos, podría estar presente en las plantas muestreadas, por lo que se sugiere realizar las pruebas adicionales para descartar o confirmar la presencia de este patógeno. Aún cuando debe hacerse un análisis de nutrientes, es posible que los síntomas observados fueran el resultado de deficiencias de fósforo, ya que bajo esta condición se presenta una coloración morada en el envés de las hojas de jitomate (Domínguez, 1997). Otra probable explicación es que tal coloración se haya debido a la acumulación de antocianinas (Azcón-Bieto, 2008).

Los síntomas de mosaico, deformación de hojas y amarillamiento observados durante el muestreo coinciden con los inducidos por el TMV, el cual está reportado en el estado de Morelos (Ramírez *et al*, 2001). Además, este patógeno se transmite fácilmente durante las prácticas culturales por lo que puede diseminarse rápidamente en invernadero (Cárdenas, 1999); sin embargo, en ninguna de las localidades se detectó este virus. Cabe mencionar que los síntomas inducidos por el TMV son similares a los provocados por otros virus como el CMV, lo que podría explicar que los resultados de PCR fueran negativos. También es posible que los síntomas observados se deban a deficiencias de magnesio o nitrógeno, los cuales inducen clorosis en brotes vegetativos y en hojas adultas, respectivamente (Azcón-Bieto, 2008).

En las muestras analizadas para *Begomovirus*, TSWV, *Potexvirus* y TMV se observaron bandas de ADN de tamaño distinto al producto esperado. La técnica es extremadamente sensible a la presencia de moléculas de ADN contaminante, que puede dar lugar a amplificaciones inespecíficas o bien, en algunas ocasiones el ADN y ARN extraídos de muestras vegetales puede contener polisacáridos, metabolitos secundarios, proteínas o polifenoles que al precipitar con el ADN afectan la reacción dando lugar a amplificaciones no esperadas (Sánchez *et al.*, 2012).

CONCLUSIONES

Las plantas de jitomate recolectadas en los cuatro municipios del estado de Morelos presentaron síntomas putativos a virus, principalmente mosaico y deformación foliar.

No se detectaron *Begomovirus*, *Potexvirus* ni al virus TMV en las muestras analizadas.

Se detectó al TSWV en una de las plantas del invernadero de Mazatepec.

LITERATURA CITADA

- Agrios G., N. 2008. Fitopatología. 2a edición. Editorial Limusa. México. 856 p.
- Azcón-Bieto J. 2008. Fundamentos de Fisiología Vegetal. 2ª edición. Editorial McGraw-Hill. Madrid, España. pp: 107-110.
- Baez M. 2000. Influencia de dos virus simples y un complejo viral sobre el peso de los frutos de cinco variedades de tomate (*Solanum lycopersicum* Mill.). Revista Protección Vegetal. 15: 182-184.
- Bedford I., D., W. Briddon R., K. Brown J., C. Rosell, R., G. Markham, P. 1994. Geminivirus transmission and biological characterization of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes from different geographic regions. Annals of Applied Biology. 125:311-325.
- Cárdenas S., E. 1999. Diagnóstico de virus mediante inclusiones virales, microscopia electrónica y rango de hospedantes. Colegio de Postgraduados. Montecillo. México. 147 p.
- Cervantes D., L. 2005. Identificación biológica y molecular de fitoplasmas y geminivirus de la alstroemeria (*Alstroemeria* L.). Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 88 p.
- Conti, M., D., Gallitelli, V., Lisa O., Lovisolo P., Martelli A., Ragozzino G., Rana L., y Vovlas C. 2000. Principales virus de las plantas hortícolas. Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España. 206 p.
- Dardón D., Calderón F., Salaguero V., Lastra R. y Brown J. 1994. Identificación de virus en el tomate (*Lycopersicon sculentum* L.) en cinco departamentos de Guatemala. Agronomía Mesoamericana. 5: 109-117.

- De la Torre A., R. 1996. Caracterización biológica y molecular de un complejo viral en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en los valles altos de México. Tesis de Doctor en Ciencias. Colegio de postgraduados. Montecillo, México.
- De la Torre A., R., M. Salazar S., R. Ruiz M. 2007. Ocurrencia de un tobamovirus asociado con manchas anulares amarillas en nopal tunero en México. *Agrociencia*. 7: 763-773.
- Domínguez V., A. 1997. Tratado de Fertilización. 3a edición. Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España. pp: 44-54.
- Faría R., A.E. y Nava A. 2009. Detección por PCR de Begomovirus en el cultivo del tomate en las áreas productoras de los Andes Venezolanos. *Revista de la Facultad de Agronomía*. 26: 170-195.
- Fiallo O., E., Y. Marztínez Z., C. Hernández Z., J. Carrillo T. y R.F. Rivera B. 2009. Identificación de nuevos Begomovirus en Cuba mediante el empleo de la amplificación por círculo rodante. *Revista de Protección vegetal*. 24: 81-89.
- Guevara G., R.G., L. Ramos P., R.F. Rivera B. 1999. Complemetation of coat protein mutants of pepper huasteco geminivirus in transgenic tobacco plants. *Phytopathology*. 89:540-545.
- Ibáñez A., J.T., Z.I. Fonnegra M., M.B. Camacho P., R. Plaza D., y R.F. Bustamante R. 1999. Los geminivirus. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 17: 68-72.
- Jones R., A.C., Koenning R. y E. Lesemann D. 1980. Pepino Mosaic Virus, a new Potexvirus from pepino (*Solanum muricatum*). *Annal of Applied Biology*. 94: 61-68.
- Kai-Shu L., W. Wintermantel M. and Bledsoe M. 2008. Genetic composition of *Pepino mosaic virus* Population in North American greenhouse tomatoes. *Plant Disease*. 92: 1683-1688.

- Kai-Shu L. and Zhang W. 2011. First report of Pepino mosaic virus infecting tomato in México. *Plant Disease*. 95: 1035.
- Morris J. 2001. Protocol for the diagnosis of quarantine organism: *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Impatiens necrotic spot virus* (INSV), and *Watermelon silver mottle virus* (WSMoV). Central Science Laboratory. Sand Hutton, York. UK. 35 p.
- Pérez M., L., D. Santiago G., E. Rico J., R. Ramírez M. y B. Mendoza C. 2008. Efecto de virus fitopatógenos sobre características agronómicas y calidad del ajo (*Allium sativum* L.), en el estado de Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 26: 40-48.
- Perring T., M., D. Cooper A., J. Rodriguez R., A. Farrar C., S. Bellows T. 1993. Identification of a whitefly species by genomic and behavioral studies. *Science* 259:74-77.
- Ramírez R., S., A. Salazar P. y Nakagome T. 2001. Manual de plagas y enfermedades del jitomate, tomate de cáscara y cebolla en Morelos. Campo Experimental Zacatepec, INIFAP. Folleto técnico No. 28. Zacatepec, Mor., México. 110 p.
- Ramírez F., J., A. Salazar P. y Nakagome T. 2002. Mejoramiento de las técnicas para el control de plagas y enfermedades de hortalizas en Morelos. En: informe de investigación 2000-2001. INIFAP. p. 22.
- Ramírez R., S., F. Osuna G. J.M. Vázquez A., J.D., Bustamante O. J. Canul K. y T. Ocampo O. 2009. Plagas y enfermedades del jitomate cultivado en invernaderos y bioespacios de Morelos. Campo Experimental Zacatepec, INIFAP. Folleto técnico No. 37. Zacatepec, Mor., México. 110 p.
- Rosello S., y Nuez F. 1977. Estado actual de la lucha contra el virus del bronceado del tomate. *Revista de la Facultad de Agronomía*. 14: 611-624.

- Sánchez, O., N.G., M. Luna R., M. Vásquez T., L.R. Sánchez V., N. Santana B, P. Octavio A. y L.G. Iglesias A. 2012. Optimización de un protocolo del aislamiento del ADN y de un sistema de amplificación ISSR-PCR para *Ceratozamia mexicana* Brong. Revista Chapingo Serie de Ciencias Forestales y del ambiente. 18: 123-133.
- Torres P., I., A. Garzón T., K. Brown, J., A. Becerra F., y F.R. Rivera B. 1996. Detection and distribution of geminiviruses in México and the Southern United States. *Phytopathology*. 86: 1186-1192.
- Uexkull V., H.R. 1978. Tomato: Nutrition and fertilizer requirements in the tropics. In: Proceedings of the 1st international symposium on tropical tomato. Shanhua, Taiwan. pp: 45-48
- Van der Vlugt R., A.A., Berendsen M. 2002. Development of a general of potexvirus detection method. *European Journal of Plant Pathology*. 108: 367-371.
- Van der Vlugt R., A.A. 2009. *Pepino mosaic virus*. *Hellenic Plant Protection Journal*. 2: 47-56.
- Velázquez V., R., C. Mena J., R.M. Amador D. y H. Revles M. 2009. El virus de la marchitez manchada del jitomate afectando chile y jitomate. Campo Experimental Zacatecas, INIFAP. Folleto técnico No. 20. Zacatecas, Zac. 26 p.
- Verdugo G., F. 1989. Etiología de una nueva enfermedad del tomate en Sinaloa; supervivencia. Memorias XVI Congreso Nacional de Fitopatología. Montecillo, México. 14 p.