

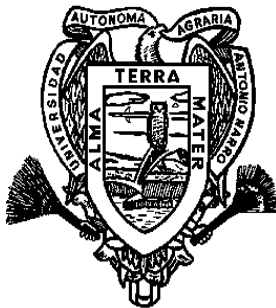
DIAGNÓSTICO, EPIDEMIOLOGÍA Y MANEJO DEL ENCHINAMIENTO SEVERO DEL TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.) EN CADEREYTA Y MONTEMORELOS, NUEVO LEÓN

CRETA ISHTAR ESTRADA ASTUDILLO

TESIS

Presentada como Requisito Parcial
para Obtener el Grado de
Maestro en Ciencias
en Parasitología Agrícola

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA



ANTONIO NARRO

PROGRAMA DE GRADUADOS

**Buenvista, Saltillo, Coahuila, México.
Diciembre de 2008.**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

DIRECCIÓN DE POSTGRADO

**DIAGNÓSTICO, EPIDEMIOLOGÍA Y MANEJO DEL ENCHINAMIENTO
SEVERO DEL TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.) EN CADEREYTA Y
MONTEMORELOS, NUEVO LEÓN**

TESIS

PRESENTADA POR:

CRETA ISHTAR ESTRADA ASTUDILLO

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como
requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA**

COMITÉ PARTICULAR

Asesor principal: _____
DR. GUSTAVO A. FRÍAS TREVIÑO

Asesor: _____
DR. OSWALDO GARCÍA MARTÍNEZ

Asesor: _____
M.C. CÉSAR GUIGÓN LÓPEZ

Asesor: _____
M.C. VÍCTOR M. SÁNCHEZ VALDEZ

DR. JERÓNIMO LANDEROS FLORES

Director de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Diciembre de 2008.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo de esta tesis fue financiado principalmente por *Fundación Produce Nuevo León, A. C.* mediante el proyecto titulado “Sistemas de monitoreo para la prevención y control de plagas y enfermedades en los cultivos de chile verde, tomate rojo, tomatillo y calabacita” (19-2006-0658), y por el *Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología* mediante la beca de Maestría No. 209427.

Al *Dr. Gustavo Frías Treviño*, por la asesoría de la tesis, así como en la revisión de la misma, la facilidad de los recursos para el trabajo y por la transmisión de conocimientos. Al *Dr. Oswaldo García Martínez, M.C. Víctor M. Sánchez Valdez y M.C. César Guigón López*, por su amable atención, valiosa aportación y disponibilidad en la revisión del escrito.

De manera especial quiero agradecer a la *Dra. Jimena Carrillo* y al *Dr. Rafael Rivera Bustamante* por su valioso apoyo en los trabajos de laboratorio durante la estancia de investigación que realice en el Laboratorio de Virología Vegetal del Departamento de Ingeniería Genética del CINVESTAV-IPN, Unidad Irapuato, Guanajuato. Así como al *M.C. Alejandro Monsalvo Reyes* por la facilidad y disponibilidad de los recursos para culminar el trabajo de laboratorio, en la Unidad de Biología y Prototipos (UBIPRO) de la FES-Iztacala.

DEDICATORIAS

A MIS PADRES

Emma Astudillo Reyes (†) y Salvador Estrada Ascencio.

Gracias por la motivación hacia la búsqueda de lo más simple «valiente y alegremente».

A MIS HERMANOS

Libia Isis y Ubaldo Salvador.

Ambos saben lo imprescindible que ha sido su apoyo y cariño en cada uno de los proyectos que he realizado.

A MIS GRANDES AMIGOS

Eduwiges Martínez Luna, Hanny Heni Slany Pereira, María de Jesús Vargas, Roberto Urbina Galeana y Santiago Vergara Pineda.

Por su confianza y gran cariño.

COMPENDIO

Diagnóstico, Epidemiología y Manejo del Enchinamiento Severo del Tomate
(*Lycopersicon esculentum* Mill.) en Cadereyta y Montemorelos, Nuevo León

POR

CRETA ISHTAR ESTRADA ASTUDILLO

MAESTRIA

PARASITOLOGIA AGRICOLA

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. NOVIEMBRE DE 2008

Dr. Gustavo A. Frías Treviño. Asesor

Palabras Clave. Epidemiología, *Begomovirus*, *Bemisia* spp.

Los geminivirus son fitopatógenos que ocasionan considerables pérdidas y daños en numerosos cultivos de importancia económica en regiones tropicales y subtropicales del mundo. El género *Begomovirus* es el grupo más diversificado y ampliamente distribuido de la familia *Geminiviridae*; el genoma de estos virus esta constituido por dos moléculas de DNA circular de cadena sencilla (denominado bipartita), son transmitidos por la mosquita blanca, *Bemisia tabaci* (Genn), e infectan plantas dicotiledóneas.

En el presente trabajo los resultados en la prueba de DAS-ELISA indicaron la presencia de dos virus de RNA en baja frecuencia, en tomate fue la especie *Potato virus Y* (PVY); mientras que en maleza sintomática *Helianthus annuus* (girasol) y *Physalis ixocarpa* (tomatillo) se detectó la especie de *Alfalfa mosaic virus* (AMV). En las reacciones de PCR, se detectó la presencia de begomovirus en plantas de tomate con síntomas de infección por virus, con los iniciadores CP70/YMAC se obtuvo una amplificación de 570 pb solo con muestras procedentes de Cadereyta. Las secuencias nucleotídicas de los fragmentos amplificados confirmaron que el begomovirus asociado con los síntomas observados en campo, es el *Tomato severe leaf curl virus* (acc. no. DQ347947), el porcentaje de similitud con el aislado de este virus fue de 97%. Por otra parte, la fluctuación poblacional durante el ciclo primavera-verano 2007 para el Rancho “El Escape”, con manejo orgánico presentó un pico poblacional de arribo, el día 09 de abril con una media de 478 individuos/trampa/día. Así mismo, en el Rancho con manejo convencional “San Luis”, se presentó el día 29 de marzo un pico poblacional, llegando a registrarse una media de 49 individuos/trampa/día. La incidencia de la enfermedad del enchinamiento severo del tomate vario de 8% al 100%. Los valores más altos se obtuvieron durante el ciclo primavera-verano. La especie de mosquita blanca asociada al tomate en Cadereyta y Montemorelos fue *Bemisia argentifolii*. El modelo que mejor se ajustó al desarrollo de la enfermedad fue el Logístico ($R^2 \geq 0.91$). La velocidad de incremento de la enfermedad fue de 0.09 a 0.13 en los ranchos “El Escape” y “San Luis”, respectivamente. El período de incubación del virus en la planta desde que es inoculado por el vector, hasta que presenta los primeros síntomas fue de 23 a 28 días. El manejo convencional que se realizó en el rancho “San Luis”, en el 2006, se reflejó en una menor población de mosquita blanca y una baja incidencia de virosis en el cultivo.

ABSTRACT

**Diagnostic, Epidemiology and Management of the Severe Leaf Curl of the Tomato
(*Lycopersicon esculentum* Mill.) in Cadereyta and Montemorelos, Nuevo León.**

BY

CRETA ISHTAR ESTRADA ASTUDILLO

MASTER IN SCIENCES

PARASITOLOGIA AGRICOLA

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. NOVEMBER 2008

Dr. Gustavo A. Frías Treviño. Assessor

Key words. Epidemiology, *Begomovirus*, *Bemisia* spp.

The geminivirus is fitopatógenos that cause considerable losses and damages in numerous cultivations of economic importance in tropical and subtropical regions of the world. The gender Begomovirus is the more diversified and broadly distributed group of the family *Geminiviridae*; the genoma of these virus this constituted by two molecules of DNA to circulate of simple chain (denominated bipartisan), they are transmitted by the whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn), and they infect dicotyledoneous plants. Presently work the results in ELISA test indicated the presence of two virus of RNA in low frequency,

in tomato it was the species *Potato virus Y* (PVY); while in symptomatic overgrowth *Helianthus annuus* (sunflower) and *Physalis ixocarpa* (tomatillo) it detects the species of *Alfalfa mosaic virus* (AMV). In the reactions of PCR, the begomovirus presence was detected in tomato plants with infection symptoms for virus, with the primers CP70/YMAC an amplification of 570 pb was obtained with samples coming from Cadereyta. The sequences nucleotides of the amplified fragments confirmed that the begomovirus associated with the symptoms observed in field, is the Tomato severe leaf curl virus (acc. no. DQ347947), the percentage of similarity with the isolated of this virus was of 97%. The populational fluctuation during the cycle spring-summer 2007 for the Ranch "The Escape", with organic handling presented a populational pick of arrival, the day April 09 with a stocking of 478 insects/trap/day. Likewise, in the Ranch with conventional management "San Luis", the day it was presented March 29 a populational pick, ending up registering a stocking of 49 insects/trap/day. The incidence of the epidemic of the severe enchinamiento of the tomato varies from 8% to 100%. The highest values were obtained during him cycle spring-summer. The species of white fly associated to the tomato in Cadereyta and Montemorelos was *Bemisia argentifolii*. The pattern that better it was adjusted to the development of the epidemic the Logistical was ($R^2 \geq 0.91$). The speed of increment of the illness went from 0.09 to 0.13 in "The Escape" and "San Luis", respectively. The period of incubation of the virus in the plant since it is inoculated by the vector, until it presents the first symptoms went from 23 to 28 days. The conventional management that was carried out in the ranch "San Luis", in the 2006, was reflected in a smaller population of white fly and a low virosis incidence in the cultivation.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Antecedentes.....	4
Familia <i>Geminiviridae</i>	8
Características generales.....	8
Clasificación.....	10
Proceso de infección.....	12
Síntomas.....	13
Mosca blanca e implicación epidemiológica.....	14
Interacción planta-patógeno-vector.....	17
Incidencia.....	19
Modelos para analizar el progreso temporal de la epidemia.....	20
DIAGNÓSTICO, EPIDEMIOLOGÍA Y MANEJO DEL ENCHINAMIENTO SEVERO DEL TOMATE (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.) EN CADEREYTA Y MONTEMORELOS, NUEVO LEÓN.....	23
LITERATURA CITADA.....	51
APÉNDICE.....	55
ÍNDICE DE CUADROS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Geminivirus que afectan el cultivo el tomate en México.....	8
2	Clasificación de la familia <i>Geminiviridae</i> según segmentación del genoma, rango de hospedero y vector transmisor.....	11
3	Clasificación de los tipos de transmisión de virus de plantas.....	13
4	Modelos para analizar el progreso de la enfermedad.....	22

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Morfología típica de las partículas virales de geminivirus.....	9
2	Esquema de la organización genómica de los cuatro géneros que conforman la familia <i>Geminiviridae</i>	11
3	Representación esquemática del ciclo de infección geminiviral.....	12
4	Foto del adulto de <i>B. tabaci</i> y <i>B. argentifolii</i> de 4º instar ninfal.....	14

INTRODUCCIÓN

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es una de las especies hortícolas más importantes cultivadas en México, debido a la diversidad de usos, su alto valor nutritivo como fuente valiosa de sales minerales, vitamina C y β -caroteno (provitamina A) y un alto valor económico. Los productores nacionales de tomate se han concentrado en exportarlo, lo que representa una importante fuente de divisas al país; con un mercado global de 4.2 millones de toneladas exportadas, México ocupa el segundo lugar en volumen y el tercero en valor, con una producción de 780 mil toneladas con cifras que rondan mil millones de dólares, que lo ubica detrás de España y los Países Bajos (FAO, 2004).

De acuerdo con un estudio de mercado realizado en el 2004 por la Universidad Autónoma de Nuevo León, el consumo per cápita de los regiomontanos es de 21.4 kilogramos, lo que arroja una demanda aproximada de 87, 299 toneladas de tomate anualmente. Sin embargo, la producción del interior del estado sólo alcanza a cubrir un 10 por ciento de la demanda, por lo que el resto (78, 299 toneladas), se adquieren de Sinaloa, Nayarit o Tamaulipas en los meses de noviembre a mayo, y Coahuila, Zacatecas y San Luis Potosí desde Junio hasta octubre (De Santiago, 2005).

El tomate de invernadero actualmente crece fuertemente en el sur y centro del Estado de Nuevo León con una producción de 5 037 toneladas, y un rendimiento promedio de fruto de 20.108 toneladas por hectárea (SIAP, 2008). Sin embargo, una de las grandes limitaciones que tiene el cultivo de tomate, no sólo en México, sino en todo el mundo, es la gran cantidad de enfermedades y plagas a las que se muestra susceptible. Se han descrito cientos de agentes causantes de enfermedad en tomate, pero no todos tienen una distribución geográfica, prevalencia o importancia económica equivalente. Uno de los factores limitantes más importantes en la rentabilidad de este cultivo, es la presencia de enfermedades, sobre todo aquellas causadas por geminivirus, las cuales cada día cobran mayor importancia.

Los geminivirus constituyen uno de los grupos de virus fitopatógenos con mayor relevancia económica en el sector agrícola al provocar importantes pérdidas en los cultivos a los que afectan, tales como tomate y chile (Torres-Pacheco *et al.*, 1996; Polston y Anderson, 1997). Estas virosis se transmiten en el campo principalmente mediante insectos vectores, que infectan una amplia variedad de cultivos en regiones tropicales y subtropicales (Brown y Bird, 1992).

En Yucatán, Guanajuato, Jalisco y San Luis Potosí una de las principales limitantes para la producción de tomate y chile, son las enfermedades causadas por geminivirus (begomovirus) transmitidos por mosquita blanca, entre ellos el *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* (TYLCV), *Pepper Huasteco Virus* (PHYVV), *Chino del Tomate Virus* (CdTV), *Peppe Golden Mosaic Virus* (PepGMV) (Garzón-Tiznado *et al.*, 2001; Ascencio-Ibañez *et al.*, 1999).

En Nuevo León se presenta una situación similar; aunque no se ha determinado el agente causal de la enfermedad, los síntomas coinciden con los originados por begomovirus y los daños causados son actualmente una de las principales causas de siniestro del cultivo, y la principal razón por la que los productores siembran solo en el ciclo de otoño-invierno (Septiembre-Diciembre), para evitar las altas incidencias que se presentan en el ciclo de primavera-verano (Mayo-Agosto) (Frías, G.A. comunicación personal).

El manejo fitosanitario para ésta enfermedad en Nuevo León, no está bien definido. Existe una falta de medidas eficaces para el control de geminivirus, y en concreto su diseminación por insectos es una de las características que dificultan la lucha contra las enfermedades que causan. Los productores aplican métodos de control dirigidos al insecto y no a prevenir la transmisión de la enfermedad, pues se desconoce cuando y como inicia la enfermedad (epidemia), y como se relaciona ésta con la fluctuación poblacional del posible vector, la mosquita blanca, por lo anterior, se plantearon los siguientes objetivos para este trabajo.

- Determinar e identificar el agente causal del enchinamiento severo del tomate.
- Estudiar la relación entre la población de mosquita blanca y la epidemia del enchinamiento del tomate.
- Evaluar el efecto de los sistemas de manejo del cultivo en el control de la enfermedad.

El tomate de invernadero actualmente crece fuertemente en el sur y centro del Estado de Nuevo León con una producción de 5 037 toneladas, y un rendimiento promedio de fruto de 20.108 toneladas por hectárea (SIAP, 2008). Sin embargo, una de las grandes limitaciones que tiene el cultivo de tomate, no sólo en México, sino en todo el mundo, es la gran cantidad de enfermedades y plagas a las que se muestra susceptible. Se han descrito cientos de agentes causantes de enfermedad en tomate, pero no todos tienen una distribución geográfica, prevalencia o importancia económica equivalente. Uno de los factores limitantes más importantes en la rentabilidad de este cultivo, es la presencia de enfermedades, sobre todo aquellas causadas por geminivirus, las cuales cada día cobran mayor importancia.

Los geminivirus constituyen uno de los grupos de virus fitopatógenos con mayor relevancia económica en el sector agrícola al provocar importantes pérdidas en los cultivos a los que afectan, tales como tomate y chile (Torres-Pacheco *et al.*, 1996; Polston y Anderson, 1997). Estas virosis se transmiten en el campo principalmente mediante insectos vectores, que infectan una amplia variedad de cultivos en regiones tropicales y subtropicales (Brown y Bird, 1992).

En Yucatán, Guanajuato, Jalisco y San Luis Potosí una de las principales limitantes para la producción de tomate y chile, son las enfermedades causadas por geminivirus (begomovirus) transmitidos por mosquita blanca, entre ellos el *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* (TYLCV), *Pepper Huasteco Virus* (PHYVV), *Chino del Tomate Virus* (CdTV), *Peppe Golden Mosaic Virus* (PepGMV) (Garzón-Tiznado *et al.*, 2001; Ascencio-Ibañez *et al.*, 1999).

En Nuevo León se presenta una situación similar; aunque no se ha determinado el agente causal de la enfermedad, los síntomas coinciden con los originados por begomovirus y los daños causados son actualmente una de las principales causas de siniestro del cultivo, y la principal razón por la que los productores siembran solo en el ciclo de otoño-invierno (Septiembre-Diciembre), para evitar las altas incidencias que se presentan en el ciclo de primavera-verano (Mayo-Agosto) (Frías, G.A. comunicación personal).

El manejo fitosanitario para ésta enfermedad en Nuevo León, no está bien definido. Existe una falta de medidas eficaces para el control de geminivirus, y en concreto su diseminación por insectos es una de las características que dificultan la lucha contra las enfermedades que causan. Los productores aplican métodos de control dirigidos al insecto y no a prevenir la transmisión de la enfermedad, pues se desconoce cuando y como inicia la enfermedad (epidemia), y como se relaciona ésta con la fluctuación poblacional del posible vector, la mosquita blanca, por lo anterior, se plantearon los siguientes objetivos para este trabajo.

- Determinar e identificar el agente causal del enchinamiento severo del tomate.
- Estudiar la relación entre la población de mosquita blanca y la epidemia del enchinamiento del tomate.
- Evaluar el efecto de los sistemas de manejo del cultivo en el control de la enfermedad.

REVISIÓN DE LITERATURA

Antecedentes

El jitomate cultivado, probablemente se originó de tipos silvestres del denominado tomate cereza (*Lycopersicon esculentum* var. *ceraciforme* L.) que se encuentra en el área entre Ecuador, Bolivia y Perú, en los Andes de América del Sur. Su domesticación ocurrió en los países del norte de América, del sur y de América Central, principalmente en México (Jones *et al.*, 2001), de donde fue llevado posteriormente a Europa por los españoles para fines ornamentales.

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es una especie dicotiledónea, que pertenece a la familia de las Solanáceas. Es una planta herbácea, perenne de corta vida y puede presentar una floración y fructificación durante cinco meses o menos (Rick, C. M. 1995). Es cultivada como anual (Maroto, J. 1994). Según su hábito de crecimiento, se han descrito dos tipos de tomate cultivado, los determinados e indeterminados. Las variedades con hábito de crecimiento determinado presentan floración y fructificación definido y alcanzan hasta 2 m de altura. Las variedades con hábito de crecimiento indeterminado pueden alcanzar hasta 10 m de altura y su producción puede extenderse por más de una estación, debido a que se desarrollan bajo invernadero (Picken *et al.*, 1986).

Uno de los factores más importantes que ponen en riesgo la producción de tomate, es la propensión a plagas como nematodos, ácaros, áfidos, trips y moscas blancas, o a enfermedades causadas por hongos, bacterias, viroides, fitoplasmas y virus (Jones *et al.*, 2001), estos últimos causan importantes pérdidas de rendimiento y calidad en este cultivo.

Diferentes familias de virus pueden atacar el cultivo del tomate; algunos de ellos son virus con genoma de RNA, por ejemplo los potyvirus, *Tobacco Etch Virus* (TEV) y *Potato Virus Y* (PVY); los tobamovirus, *Tomato Mosaic Virus* (ToMV) y *Tomato Mosaic Virus* (TMV); el cucumovirus, *Cucumber Mosaic Virus* (CMV) y el tospovirus, *Tomato Spot Wilt Virus* (TSWV) (Jones *et al.*, 2001), y los virus con genoma de DNA, una de las principales familias son los geminivirus (begomovirus), la distribución de estos virus abarca los cinco continentes, y es considerado como uno de los patógenos más comunes e importantes económicamente de tomate.

En la década de los 80(s), las regiones productoras de tomate, Chile y cucurbitáceas han sido afectadas por elevadas incidencias de enfermedades causadas por begomovirus y tienen un impacto devastador sobre la producción (Brown *et al.*, 1995).

Holguín-Peña *et al.* (2004), mencionan que en las dos últimas décadas, la combinación insecto/vector/virus ha ocasionado importantes epifitias con pérdidas económicas millonarias. Las pérdidas económicas se deben a la reducción del rendimiento (fluctúan del 40, 80 hasta de un 100%) y a la baja calidad del producto cosechado.

En Florida, EUA, el virus del jaspeado del tomate (*Tomato mottle virus*, ToMoV), ha ocasionado pérdidas que exceden los 125 millones de dólares (Simone *et al.*, 1990). En algunas plantaciones la incidencia de plantas infectadas con ToMoV llegó a 100%, después de varios ciclos de cultivo (Polston *et al.*, 1996). Actualmente esta presente en forma endémica en Puerto Rico (Brown *et al.*, 1995; Polston *et al.*, 1995), y su presencia en este país puede ser resultado del traslado de plántulas de tomate infectadas desde Florida. Las epidemias causadas por el virus Texano del chile (TPV) en Estados Unidos de América (EUA), ocurrieron por primera vez en Texas en 1987 y en el estado de Tamaulipas, al noroeste de México (Torres-Pacheco *et al.*, 1996), afectando tanto al tomate como al chile. El PHV se detectó afectando al chile en EUA, también desde 1987 (Stenger *et al.*, 1990), el cual es capaz de infectar tomate.

En Brasil, a partir de 1994, las pérdidas en su producción ha causa de varios begomovirus se estima en un 75%.

En Venezuela en la década de los 70(s), se identificó por primera vez; una enfermedad del tomate causada por el virus del mosaico amarillo del tomate (TYMV). Este virus constituyó una limitante para la producción, debido a que el 100% de las plantas examinadas durante la floración mostraron los síntomas característicos del TYMV (Lastra y De Uzcátegui, 1975). En este mismo país, en 1997, una cepa del virus del mosaico amarillo de la papa (PYMV) se identificó en plantas de tomate con síntomas característicos de virosis (Guzmán *et al.*, 1997).

En la República Dominicana, en 1992, se detectaron los síntomas correspondientes al virus del enrollamiento foliar amarillo del tomate (TYLCV), (Polston *et al.*, 1994). El TYLCV se identificó más tarde en Jamaica y Cuba (McGlashan *et al.*, 1994; Ramos *et al.*, 1996).

En México, los geminivirus se han caracterizado por el rápido aumento en la distribución e incidencia en las últimas décadas (Morales *et al.*, 2004). En Sinaloa, el virus del chino del tomate (CdTV) se puede detectar tanto en plantaciones de tomate como de chile. Este virus también se encontró en otras áreas productoras del país, por ejemplo en los estados de Chiapas, Morelos y Tamaulipas (Brown y Nelson 1988; Torres-Pacheco *et al.*, 1996). El virus PHV tiene una distribución amplia en México y ha sido detectado tanto en chile como en jitomate en los estados de Guanajuato, Quintana Roo, Sinaloa y Tamaulipas. (Torres-Pacheco *et al.*, 1996). Las epidemias del TPV ocurren en tomate y chile en el estado de Tamaulipas, en el noreste de México (Torres-Pacheco *et al.*, 1996). El virus del rizado amarillo del tomate (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV) ha limitado seriamente la producción de tomate en el Estado de Yucatán (Ascencio-Ibáñez *et al.*, 1999).

Los geminivirus, hasta ahora detectados en México (Cuadro 1), en el cultivo del tomate, pertenecen al género de begomovirus bipartitas, exceptuando el TYLCV detectado en Yucatán, que es un begomovirus monopartita (Ascencio-Ibáñez *et al.*, 1999). Los más importantes por su distribución, ocurrencia y patogenicidad, son el virus del mosaico dorado del chile (*Pepper golden mosaic virus*, PepGMV) y el virus huasteco del chile (*Pepper huasteco virus*, PHYVV).

Cuadro 1. Geminivirus que afectan el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum*) en México.

Virus ^x	Acrónimo	Referencia
<i>Pepper golden mosaic virus</i>	PepGMV-Tam ^y	Stenger <i>et al.</i> , 1990; Torres-Pacheco <i>et al.</i> , 1996; Brown y Poulos, 1990.
<i>Pepper huasteco virus</i>	PHYVV	Torres-Pacheco <i>et al.</i> , 1993; Garzón-Tiznado <i>et al.</i> , 1993.
<i>Chino del tomate virus</i>	CdTV ^z	Brown y Nelson, 1988; Paplomatas <i>et al.</i> , 1994.
<i>Tomato mottle virus</i>	ToMoV	Garrido-Ramírez <i>et al.</i> , 1998; Díaz-Plaza <i>et al.</i> , 2002.
<i>Tomato yellow leaf curl virus</i>	TYLCV	Ascencio-Ibáñez <i>et al.</i> , 1999.
<i>Taino tomato mottle virus</i>	TTMoV	Ramos <i>et al.</i> , 1997; Díaz-Plaza <i>et al.</i> , 2002.
<i>Sinaloa tomato leaf curl virus</i>	STLCV	Idris y Brown, 1998; Brown <i>et al.</i> , 1993.

Fuente: Holguín-Peña *et al.*, 2004. ^x Nombres en cursivas están delimitadas como especies de acuerdo al Comité Internacional de Taxonomía de Virus (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV) (Fauquet *et al.*, 2003). ^y PepGMV =Anteriormente descrito como TPV (Texas pepper virus) o SGMV (Serrano golden mosaic virus). ^z CdTV, también descrito anteriormente como TLCrV (Tomato leaf crumple virus).

Familia Geminiviridae

Características generales

Los primeros reportes sobre posibles enfermedades causadas por geminivirus datan del siglo VIII D. C., en un poema japonés escrito por la emperatriz KoKen en el año 750, en el cuál se describe un amarillamiento en *Eupatorium lyndleyanum*, muy probablemente el virus del enrollamiento de la hoja del tabaco (TLCV) (Matthews 1991). Los estudios formales con este tipo de virus se iniciaron con Goodman en 1977, quién caracterizó un virus de DNA, cadena sencilla, que infectaba frijol, acuñándose el término de Geminivirus por Harrison, en ese mismo año (Ascencio-Ibáñez *et al.*, 2000).

El término, fue aceptado en 1978 por el Comité Internacional para la Taxonomía Viral (ICTV, International Committee of the Taxonomy of Viruses), como una nueva familia viral.

El genoma de los geminivirus está constituido por una (monopartitas) o dos (bipartitas) moléculas de ADN circular de cadena sencilla. El nombre deriva de la morfología de su partícula, compuesta por dos cubiertas icosaédricas idénticas unidas por una de las caras (gemini = gemelos), característica que los distingue de todo los demás virus conocidos (Zhang *et al.*, 2001) (Figura 1).

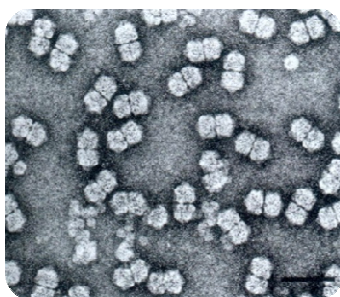


Figura 1. Morfología típica de las partículas virales de geminivirus. Micrografía electrónica del virus Maize streak virus (MSV). Tinción con acetato de uranilo 2%.

La molécula de los virus monopartitas tienen unos 2.9 kb; las de los bipartitas se componen de dos moléculas de ADN, designadas componentes A (ADN-A) y B (ADN-B), cada una de las cuales miden entre 2.6 y 2.8 kb (Lazarowitz, 1992). La organización genómica del virus *Huasteco del chile* (PHV) es típico de los begomovirus bipartitas, en tanto que la del virus del *enrollamiento amarillo de la hoja del tomate* (TYLCV) ejemplifica a la de los monopartitas.

Clasificación

La clasificación de la familia *Geminiviridae* se divide en cuatro géneros diferentes: *Begomovirus*, *Curtovirus*, *Mastrevirus* y *Topocuvirus*. Esta división se estableció en función de la estructura del genoma (monopartita o bipartita) (Figura 2), en el rango de plantas hospederas (monocotiledóneas o dicotiledóneas) y en el insecto vector que los transmite (Cuadro 2) (Fauquet *et al.*, 2003).

Los *Begomovirus* poseen un genoma que puede ser monopartita o bipartita. La especie tipo es el *Bean golden yellow mosaic virus* (Fauquet *et al.*, 2003). Estos virus son transmitidos por mosquitas blancas de la familia *Aleyrodidae* principalmente por *Bemisia tabaci* Gennadius (biotipo A) y *Bemisia argentifolii* Bellows y Perring, también conocida como *B. tabaci* biotipo B y son capaces de infectar a plantas dicotiledóneas (Brown y Bird 1992).

Los *Curtovirus* poseen un genoma monopartita. La especie tipo es el *Beet curly top virus* (Fauquet *et al.*, 2003). Son transmitidos por chicharritas e infectan plantas dicotiledóneas.

Los *Mastrevirus* poseen un genoma monopartita. La especie tipo es el *Maize streak virus* (Fauquet *et al.*, 2003). Son transmitidos por chicharritas y son capaces de infectar plantas monocotiledóneas, con la excepción del *Tobacco yellow dwarf virus* (TYDV) y el *Bean yellow dwarf virus* (BYDV) que infectan dicotiledóneas.

Los *Topocuvirus* poseen un genoma monopartita. La especie tipo es el *Tomato pseudo-curly top virus* (Fauquet *et al.*, 2003). Son transmitidos por el vector *Micrutalis malleifera* (familia Membracidae), su rango de hospederos son las plantas dicotiledóneas.

Cuadro 2. Clasificación de la familia *Geminiviridae* según segmentación del genoma, rango de hospedero y vector transmisor.

Género	Especie tipo ^a	Genoma	Rango de hospedero	Vector transmisor
Mastrevirus	MSV	Monopartita	Mono-y dicotiledóneas	<i>Cicadulina</i> spp. ¹
Curtovirus	BCTV	Monopartita	Dicotiledóneas	<i>Circulifer tenellus</i> ¹
Topocuvirus	TPCTV	Monopartita	Dicotiledóneas	<i>Micrutalis malleifera</i> ²
Begomovirus	BGYMV	Mono-y bipartita	Dicotiledóneas	<i>Bemisia tabaci</i> ³

Fuente: Fauquet *et al.*, 2003.

^a MSV. *Maize streak virus*, BCTV. *Beet curly top virus*, TPCTV. *Tomato pseudo curly top virus*, BGYMV. *Bean golden yellow mosaic virus*.

1-3. Familia taxonómica (todos del Orden Hemiptera): ¹*Cicadellidae*, ²*Membracidae*, ³*Aleyrodidae*.

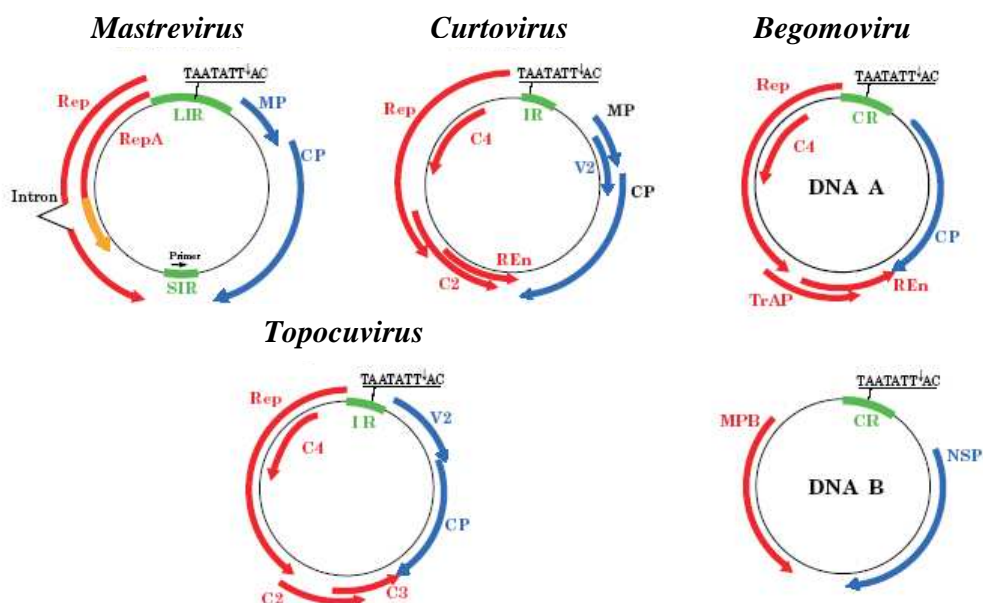


Figura 2. Esquema de la organización genómica de los cuatro géneros que conforman la familia *Geminiviridae*. CR= Región común, CP= Proteína de la cápside, Rep= Proteína de replicación, TrAP= Proteína activadora de la transcripción, REn= Proteína activadora de la replicación, AC4= Proteína implicada en la represión de la expresión del gen AC1 y en el movimiento o en la expresión de los síntomas, NSP= Proteína de transporte nuclear, MP= Proteína de movimiento. La secuencia TAATATTAC es el sitio de inicio de la replicación por círculo rodante.

Proceso de infección

El proceso de infección inicia con la llegada del virus a la planta (Figura 3). Los *Geminivirus* son transmitidos de manera persistente y circulativa (Cuadro 3), pueden ser retenidos y transmitidos durante todo el ciclo de vida de las mosquitas blancas (Czosnek *et al.*, 2002). Este tipo de transmisión involucra el paso del virus a través del cuerpo del insecto y consiste de dos fases: primero, es la adquisición del virus, en la cual pasa hasta la hemolinfa vía la pared del tracto digestivo, y segundo, la inoculación del virus en la planta, la cual requiere el paso del virus desde la hemolinfa hasta las secreciones salivares, donde la proteína de la cápside está implicada en su transmisión (Liu *et al.*, 1997; Liu *et al.*, 1999; Palmer y Rybicki, 1998). Una vez en la célula, la partícula viral es desensamblada para liberar su DNA genómico. Una vez liberado, el genoma se moviliza y entra en el núcleo, donde da inicio el proceso de replicación (Monsalve-Fonnegra *et al.*, 2002).

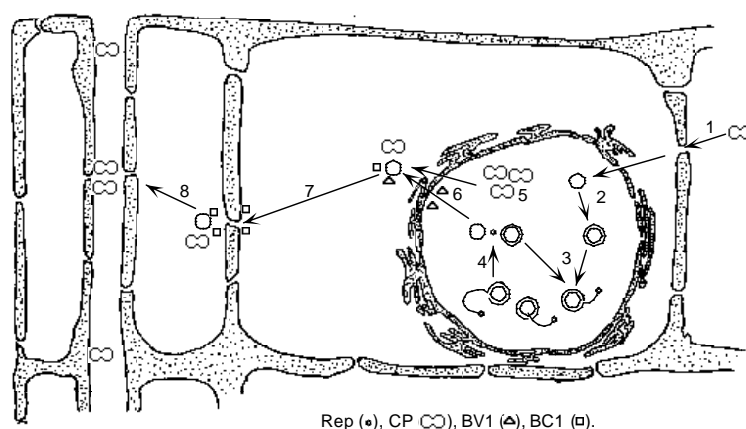


Figura 3. Representación esquemática del ciclo de infección geminiviral. (1) Liberación de la partícula y movimiento al núcleo. (2) Síntesis de DNAdc. (3) Replicación por círculo rodante. (4) Término de la replicación. (5) Encapsidación del genoma. (6) Movimiento del genoma de núcleo a citoplasma. (7) Movimiento del genoma de citoplasma a células vecinas. (8) Movimiento de las partículas virales al floema desde donde pueden ser adquiridas por el insecto vector para la transmisión.

Cuadro 3. Clasificación de los tipos de transmisión de virus de plantas.

Características	Tipos de Transmisión			
	No persistente	Semipersistente	Persistente circulativa	Persistente propagativa
Fase de adquisición	Segundos y/o minutos	Minutos y/o horas	Horas	Horas
Fase de latencia	No	No	Horas	Días y/o semanas
Fase de retención	Minutos	Horas y/o horas	Días y/o de por vida	Días y/o de por vida
Capacidad de replicación en el vector	No	No	No	Si
Grupos taxonómicos de virus	Potyvirus Cucumovirus	Caulimoviridae Closteroviridae	Luteoviridae Geminiviridae Nanoviridae	Tospovirus Reoviridae Rhabdoviridae

Síntomas

Los síntomas son los efectos visibles de la infección viral que ocasionan cambios en el metabolismo y fisiología en la planta. La sintomatología ocasionada por los geminivirus puede ser similar a la causada por deficiencias nutrimentales y a los inducidos por otras familias de virus, principalmente los *Potyvirus* y los *Tobamovirus*.

Las alteraciones más frecuentes incluyen: i) enanismo de la planta, ii) epinastia, distorsiones, clorosis, rugosidad y necrosis de las hojas, iii) distorsiones y decoloraciones de los frutos y iv) abscisión floral. (Polston y Anderson, 1997).

La naturaleza y gravedad de los síntomas producidos dependen de la cepa del virus, del genotipo del huésped, del momento de infección, y de las condiciones ambientales (Monsalve-Fonnegra *et al.*, 2002).

Mosca blanca e implicación epidemiológica

Durante la última década, varios sistemas agrícolas en las regiones tropicales y subtropicales han sido severamente afectados por la mosca blanca (Hemiptera: Aleyrodidae). Este insecto ha sido considerado un severo problema fitosanitario en varios cultivos de gran importancia socioeconómica en países africanos, asiáticos, europeos, americanos y en algunas regiones de Australia.

En América constituye un serio problema desde el sur de los Estados Unidos hasta argentina, incluyendo todos los países del Caribe, como plaga por sus grandes poblaciones (Posos y Fregoso, 2004).

Son varias las causas por las cuales se deriva la importancia que tienen las moscas blancas en los sembradíos de hortalizas. Una de ellas es el daño directo ocasionado por ninfas y adultos, ya que al succionar la savia de las plantas, llegan a causarles debilitamiento, de tal manera que pueden ocasionar la muerte de la planta, sobre todo en sembradíos con altas poblaciones; además, las mielecillas que excretan en ambos estados biológicos sirven como sustrato para el desarrollo de la fumagina, la cual, al cubrir el área foliar, provoca trastornos en la fotosíntesis y en la respiración, reduciendo el vigor de la planta. Sin embargo, el daño mayor ocasionado por estos insectos está

relacionado con la transmisión de enfermedades de tipo viral, principalmente de las familias *Geminiviridae* (*Begomovirus*), *Potyviridae*, *Comoviridae* y los géneros *Crinivirus*, *Closterovirus*, *Carlavirus* (Duffus, 1985). Estas enfermedades han provocado pérdidas considerables en la calidad y cantidad de las cosechas, lo que a su vez, ha provocado la disminución de la superficie sembrada, por la baja rentabilidad de los cultivos y como consecuencia el abandono del campo.

A nivel mundial se reportan 1,200 especies, incluidas en 126 géneros; sin embargo, en México las reconocidas como especies de importancia económica y que transmiten virus fitopatógenos son *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), *Trialeurodes abutilonea* (Haldeman), *Bemisia tabaci* (Gennadius) designada como biotipo A y *Bemisia argentifolii* (Bellows & Perring), esta mosquita blanca se designó como el biotipo B, para distinguirla del biotipo A; la cual se ha desplazado por varias regiones del Continente Americano debido a su amplio rango de hospedantes, proliferación y capacidad de dispersión (Bedford *et al.*, 1994; Brown y Bird, 1992).

Por su parte Canno *et al.* (2000), reportan que a nivel nacional se han identificado 108 especies de plantas que se ven afectadas por la mosquita blanca siendo algunas de las más representativas las familias Solanáceas (tomate, chile, papa), Cucurbitáceas (melón, sandía, calabaza) y Brasicáceas (col, lechuga y brócoli), así como también la berenjena y las ornamentales por mencionar algunas y además, también se reportan varias malezas de las mismas familias, siendo hospederas en las épocas que no hay cultivos, lo que coincide con Salomón *et al.* (2002), quien reporta la influencia de malezas sobre las infecciones de moscas blancas en diferentes hortalizas sembradas en

el sureste mexicano. Hay que señalar que aunque al día de hoy hay alternativas de control de la mosca blanca, se siguen descubriendo nuevos geminivirus como los reportados por Luko (2002), quien señala importantes pérdidas por virus desconocidos y/o hasta el momento no caracterizados en Guatemala, Venezuela y Brasil, causando severos daños en cucurbitáceas.

En México, en las regiones noreste y noroeste del país se han detectado enfermedades de origen geminiviral asociadas a altas poblaciones de moscas blancas (Torres-Pacheco *et al.*, 1996).

La morfología de los distintos estados de las moscas blancas se describen de acuerdo a los trabajos realizados por Bellow *et al.* (1994). Presentan metamorfosis incompleta, es decir su ciclo biológico presenta tres estados de desarrollo: huevo, cuatro estadios ninfales y adulto (Figura 4). El huevo es de forma oval y mide unos 0,2 mm de longitud. La ninfa en su primer estadio es de color blanco verdoso y posee tres pares de patas bien desarrolladas, que le permiten desplazarse desde su eclosión hasta que encuentra un lugar para fijarse y comenzar a alimentarse. Una vez fijada, se produce la muda, transformándose en ninfa de segundo instar. El cuerpo es aplanado, de color amarillo verdoso y está cubierto de setas. En el tercer estadio el cuerpo es oval y el margen ondulado. En el cuarto estadio ninfal, la forma es alargada y elíptica, el color amarillo verdoso y los ojos son dos manchas rojas casi inapreciables. La forma del cuerpo es elíptica, con la región de la cabeza semicircular y contorno generalmente irregular. En la última fase del cuarto estadio no se alimenta y el color del cuerpo cambia de verdoso a amarillento más opaco. El adulto sale de la pupa por una incisión que

realiza en forma de T. Es de color blanco y mide aproximadamente 1,2 mm de largo, siendo el macho generalmente más pequeño y más delgado que la hembra. El cuerpo es de color amarillo y está cubierto por un fino polvillo blanco (Bellows *et al.*, 1994).

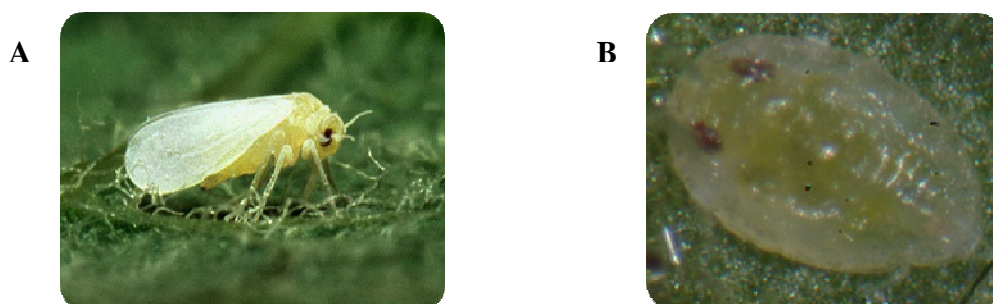


Figura 4. A) Foto del adulto de *Bemisia argentifolii* (Bellows & Perring). <http://davesgarden.com/guides/bf/showimage/94/> B) Foto de *Bemisia argentifolii* de cuarto instar ninfal.

Interacción planta-patógeno-vector

La interacción virus-planta comienza con la penetración del virus en la célula vegetal, a través de la barrera que supone la presencia de la pared celular, para lo cual el virus se sirve de otros organismos, generalmente insectos, que producen lesiones en los tejidos vegetales como consecuencia de sus hábitos alimenticios, y los introducen en las células.

Dentro del Reino Animal existen 386 especies con capacidad de transmitir virus fitopatógenos; el 74% de estos vectores son artrópodos y el resto son nematodos. De los primeros, 356 son insectos y dos son ácaros. 273 (75.4%) de los insectos vectores pertenecen al Orden Hemíptera.

Al igual que otros insectos del Orden Hemíptera (áfidos, chicharritas, psílidos), las mosquitas blancas poseen un aparato bucal picador, por lo que a través de su alimentación, que la realizan de los tejidos conductores de las plantas, tienen la capacidad de adquirir patógenos habitantes de estos tejidos y al mismo tiempo depositarlos en plantas sanas, por lo que se establece una relación planta-patógeno-vector, que está influida por una diversidad de factores, dentro de los cuales se tiene a ambientales, que determinan de alguna forma la eficiencia y capacidad de la transmisión del insecto y de la infección del patógeno en la planta (Costa, 1976; Velázquez, 1990).

Watson y Roberts (1939) generaron una clasificación dependiendo del tiempo de supervivencia del virus en el insecto, llamándoles no persistentes y persistentes (Cuadro 3). En el primer caso, la supervivencia del virus en el insecto es corta, perdiéndose la capacidad virulífera en el proceso de alimentación, y el virus es acarreado en la parte externa del estilete; en el segundo caso, la supervivencia es más prolongada (días, semanas o meses); el virus pasa a la parte interior del insecto y no se pierde en el proceso de alimentación. Para que se lleve a cabo la transmisión vectorial, es necesario que se cumplan varios períodos como son: adquisición, latencia o incubación, transmisión y retención.

Los estadíos inmaduros se alimentan por un tiempo considerable y la adquisición del virus por estos es un factor importante en la eficiencia de la transmisión, pues al llegar al estado adulto presentan gran movimiento, condición que favorece la diseminación del virus, al presentarse en plantas sanas y susceptibles al patógeno.

La adquisición de virus del hospedero puede llevarse a cabo por diferentes instares ninfales, como en el caso de *B. tabaci*, en la transmisión del virus del enchinamiento amarillo del tomate y el virus mosaico amarillo del frijol. De la misma forma, se ha demostrado que los adultos tienen la capacidad de adquirir partículas virales, jugando un papel importante en la diseminación. La adquisición de virus transmitidos por mosquitas blancas, tienen un rango que va de cinco minutos a cinco horas, dependiendo de diversos factores como la edad de la planta, temperatura y concentración de virus en el hospedero. En algunos casos, como el del enchinamiento del tabaco y clorosis de las malváceas, las mosquitas blancas son más eficientes en la transmisión cuando adquieren el patógeno de las malezas, en relación a una posible adquisición del propio cultivo (Costa, 1969).

Incidencia

La incidencia y severidad son las medidas más útiles para cuantificar una enfermedad en un patosistema específico.

La incidencia es la proporción o porcentaje de plantas sanas o enfermas o unidades de plantas como hojas, raíces, frutos, flores, tallos o ramas (Campbell y Madden, 1990). Por ejemplo, una incidencia de 45% en plantas, significa que el 45% de plantas tienen síntomas de la enfermedad y el 55% de plantas no presentan síntomas de la enfermedad.

El cálculo de la incidencia se efectúa mediante la fórmula:

$$\text{Incidencia (I)} = \frac{\text{Número de plantas o partes de plantas} \times 100}{\text{Número total de plantas o partes de plantas observadas}}$$

La incidencia es muy útil en enfermedades de muy rápida evolución como el mildiú de la cebolla, en enfermedades radicales y en los casos en los que es suficiente una lesión para que la parte afectada pierda su valor comercial.

Modelos para analizar el progreso temporal de la epidemia

Una epidemia ocurre cuando hay un cambio en la intensidad de la enfermedad en una población de plantas a través del tiempo y espacio (Kranz, 1974).

Si la cantidad de enfermedad presente en una población de plantas se evalúa en varios tiempos, los resultados pueden presentarse colectivamente como una curva de progreso de enfermedad. Esta curva es la gráfica de severidad de la enfermedad contra alguna medida de tiempo, es la representación de la epidemia. Esta representa la integración de los efectos del patógeno y los efectos medioambientales que ocurren durante la epidemia y proporciona la oportunidad de analizar, comparar, y entender las epidemias de enfermedades de plantas (Campbell y Madden, 1990). La curva de progreso de la enfermedad puede construirse para enfermedades causadas por cualquier patógeno, hospedante y para cualquier medio ambiente, en cualquier población de planta.

Edminster (1978) citado por Campbell y Madden (1990), define modelo como una representación simplificada de la realidad, o como una representación o analogía de algo que existe.

Para explicar el progreso de la enfermedad, Vanderplank (1963), plantea como se desarrollaron diferentes modelos matemáticos (Cuadro 4), de tal manera que el comportamiento de una epidemia puede ser representado por un determinado modelo que asegure el mejor ajuste de la curva a los valores de enfermedad observados. De estos modelos se obtienen los parámetros de las curvas de desarrollo o progreso de la enfermedad como son la cantidad de enfermedad inicial, tasa de crecimiento en el tiempo, área bajo la curva, forma de la curva, cantidad máxima de enfermedad, cantidad de enfermedad final.

La curva de desarrollo es usada para diferentes objetivos, entre ellos hacer comparaciones del desarrollo de las enfermedades entre cultivares o genotipos, entre tratamientos de control (Campbell y Madden, 1990).

Cuadro 4. Modelos para analizar el progreso de la enfermedad.

Modelo ^a	Forma funcional	Forma lineal
Weibull	$Y=1-\exp[-[(t-a)/b]^c]$	$[\ln[1/(1-y)]]^{1/c} = -a/b + t/b$
Logístico	$Y=1/[1+\exp[\ln[y_0/(1-y_0)]+rLt]]$	$\ln[(y/(1-y))]=\ln[y_0/(1-y_0)]+rLt$
Gompertz	$Y=\exp[\ln(y_0)\exp(-rGt)]$	$-\ln[-\ln(y)]=-\ln[-\ln(y_0)]+rGt$

Fuente: Campbell y Madden, 1990.

^aDonde: y= cantidad de enfermedad, y_0 = inóculo inicial, r= tasa de incremento, t= tiempo; a, b, c= parámetros del modelo.

Diagnóstico, Epidemiología y Manejo del Enchinamiento Severo del Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en Cadereyta y Montemorelos, Nuevo León.

Creta I. Estrada-Astudillo¹, Gustavo A. Frías-Treviño², Oswaldo García-Martínez², Víctor M. Sánchez-Valdez², Cesar Guigón-López³.

¹Estudiante de Maestría en Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Isla Groenlandia No. 3470 Col. Jardines del Sur, Guadalajara, Jalisco. C.P. 44950. Tel. 045 (331) 142 4380. Correo electrónico: estradacreta@yahoo.com.

²Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. C.P.25315, Tel. y Fax. 4 11 02 26. ³Centro de Investigación para los Recursos Naturales. Antigua Normal Rural de Salaises, Salaises, Chihuahua, México. C.P. 33941.

Resumen

Los geminivirus transmitidos por *Bemisia tabaci* (Gennadius) y *Bemisia argentifolli* (Bellows & Perring), pertenecen al género *Begomovirus*. Las epidemias asociadas a los begomovirus, han causado considerables pérdidas en el cultivo de tomate. El daño que producen se refleja en una reducción de rendimiento y calidad del fruto. La severidad de la enfermedad depende fundamentalmente del cultivar utilizado, virulencia del patógeno y sus vectores y las condiciones ambientales favorables. En el presente trabajo, los resultados en la prueba de DAS-ELISA indicaron la presencia de dos virus de RNA en baja frecuencia, en tomate fue la especie *Potato virus Y* (PVY); mientras que en maleza sintomática *Helianthus annuus* (girasol) y *Physalis ixocarpa* (tomatillo) se detecto la

especie de *Alfalfa mosaic virus* (AMV). En las reacciones de PCR, se detectó la presencia de begomovirus en plantas de tomate colectadas en la localidad de Cadereyta Jiménez, con los iniciadores CP70-MAC/YMAC se obtuvo una amplificación de 570 pb. Las secuencias nucleotídicas de los fragmentos amplificados confirmaron que el begomovirus asociado con los síntomas observados en campo, es el *Tomato severe leaf curl virus* (acc. no. DQ347947), el porcentaje de similitud con el aislado de este virus fue de 97%. Por otro lado, los resultados de datos de fluctuación poblacional de mosquita blanca durante el ciclo primavera-verano 2007 para el Rancho “El Escape”, con manejo orgánico presentó un pico poblacional de arribo, el día 09 de abril con una media de 478 individuos/trampa/día. Así mismo, en el Rancho con manejo convencional “San Luis”, se presentó el día 29 de marzo un pico poblacional, llegando a registrarse una media de 49 individuos/trampa/día. La incidencia de la enfermedad del enchinamiento severo del tomate vario de 8% al 100%. Los valores más altos se obtuvieron durante el ciclo primavera-verano. La especie de mosquita blanca asociada al tomate en Cadereyta y Montemorelos fue *B. argentifolii*. La evidencia obtenida mediante el uso de modelos epidemiológicos indicó que el modelo que mejor se ajustó al desarrollo de la enfermedad fue el Logístico ($R^2 \geq 0.91$). La velocidad de incremento de la enfermedad fue de 0.13 a 0.09 en los ranchos “El Escape” y “San Luis”, respectivamente. El período de incubación del virus en la planta desde que es inoculado por el vector, hasta que presenta los primeros síntomas fue de 23 a 28 días. El manejo convencional que se realizó en el rancho “San Luis”, en el 2006, se reflejó en una menor población de mosquita blanca y una baja incidencia de virosis en el cultivo.

Palabras clave: Epidemiología, *Begomovirus*, *Bemisia* spp.

Introducción

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es una de las especies hortícolas más importantes en México. En Nuevo León se cultivan 569 ha de esta hortaliza en dos ciclos anuales, primavera-verano y otoño-invierno. La producción anual es de aproximadamente 4,160 ton que se cosechan en 150 unidades de producción, la mayoría de ellas en el Municipio de Cadereyta, N.L. (SIAP, 2007). Uno de los principales factores limitantes de la producción y rentabilidad del cultivo es una enfermedad, aparentemente de origen viral, que ocasiona enanismo de la planta, mosaico y enchinamiento, que es conocida como enchinamiento del tomate. Esta enfermedad tiene efectos devastadores en el ciclo primavera-verano, limitando la superficie cultivada con esta hortaliza en Nuevo León. Los síntomas observados son similares a los reportados en cultivos de tomate en los estados de Tamaulipas, Sinaloa, Guanajuato, Jalisco, San Luis Potosí y Sonora, donde varios begomovirus se han encontrado involucrados, principalmente *Pepper golden mosaic virus* (PepGMV), *Pepper huasteco virus* (PHVV) y el *Chino del tomato virus* (CdTV) (Garzón-Tiznado *et al.*, 2001; Ascencio-Ibañez *et al.*, 1999). Los *begomovirus* se caracterizan por poseer un genoma de ADN de cadena sencilla, circular, empacado en partículas icosaédricas geminadas (Padidam *et al.*, 1995) y por ser transmitidos por mosquitas blancas de la familia *Aleyrodidae* principalmente por *Bemisia tabaci* Gennadius (biotipo A) y *B. argentifolii* Bellows y Perring, también conocida como *B. tabaci* biotipo B (Brown y Bird, 1992). En las dos últimas décadas, la combinación insecto/vector/virus ha ocasionado importantes epidemias con pérdidas económicas millonarias (Holguin-Peña *et al.*, 2003). En América tropical y sub-tropical, los *begomovirus* están distribuidos ampliamente y las pérdidas ocasionadas fluctúan del 30 al 80% (Garzón-Tiznado, 1995; Díaz-Plaza, 1998). En

América Central y El Caribe son numerosos los reportes de la presencia de *begomovirus*, ocasionando pérdidas en el cultivo del tomate (Brown y Bird, 1992; Rojas *et al.*, 2000). En Nuevo León los productores manejan la enfermedad basados en su experiencia empírica y en los requerimientos del mercado (productos orgánicos), sin embargo, para manejar adecuadamente las enfermedades causadas por *begomovirus* se requiere no solo diagnosticar el agente causal de la enfermedad sino conocer la interacción planta- vector (mosquita blanca) - virus - medio ambiente, lo que hace necesario investigar el patosistema en cada región productora.

El presente trabajo tuvo como objetivos: Determinar el agente causal del enchinamiento del tomate, estudiar la relación entre la población de mosquita blanca y la epidemia del enchinamiento del tomate, y evaluar el efecto de los sistemas de manejo agronómico del cultivo en el control de la enfermedad.

Materiales y Métodos

Localización del área de estudio

El trabajo de campo se realizó en los Municipio de Cadereyta Jiménez y Montemorelos, Nuevo León, en dos parcelas comerciales de tomate con diferente manejo agronómico; en el Rancho “El Escape”, con manejo orgánico, localizada en el Ejido General Treviño, a 283 msnm y ubicada a 25° 32’ 19.3” de latitud Norte y a 99° 54’ 49.6” de longitud Oeste, y en el Rancho “San Luis”, con manejo convencional, ubicada en el Ejido La Laguna, a 371 msnm y a 25° 14’ 13.3” de latitud Norte y a 99° 47’ 18.8” de longitud Oeste.

Identificación de virus por ELISA

En los ranchos “El Escape” y “San Luis” municipios de Cadereyta Jiménez y Montemorelos, respectivamente; durante los ciclos agrícolas otoño-invierno 2006 y primavera-verano 2007, se recolectaron 135 muestras de plantas con síntomas asociados a virosis. Las muestras consistieron en hojas jóvenes, mismas que se colocaron dentro de bolsas de plástico conservadas en hielo durante su transportación al laboratorio, donde se mantuvieron a -6°C. Las muestras se analizaron mediante la prueba serológica de doble anticuerpo ligado a enzimas (DAS-ELISA) (Clark y Adams, 1977), utilizando antisueros comerciales (Agdia Inc.) específicos para la detección de proteínas virales de *Tomato Spotted Wilt Virus* (TSWV), *Potato virus Y* (PVY), *Alfalfa mosaic virus* (AMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Tomato mosaic virus* (ToMV), *Tobacco ringspot virus* (TRSV) y *Tomato ringspot virus* (ToRSV). El procedimiento se realizó de acuerdo al protocolo del fabricante (Agdia Inc.) y la Guía ilustrada de la prueba de inmunoadsorción con enzimas ligadas para la detección de fitopatógenos (Cruz y Frías, 1997). Se colocó en cada placa de ELISA un control positivo, un control negativo, un blanco y 10 mg de tejido de cada muestra en 100 µl de buffer de extracción, con una repetición en la misma placa. La reacción colorimétrica fue cuantificada por absorbancia a 405 nm en un espectrofotómetro BIO-RAD 3550-UV, se tomaron datos de las reacciones antígeno-anticuerpo cada 20 minutos después de la adición del sustrato de la fosfatasa alcalina. La reacción se consideró positiva cuando la lectura de densidad óptica fue mayor o igual a tres veces la media del testigo negativo (≤ 0.03) (Cruz y Frías, 1997).

Identificación de *Begomovirus*

En el rancho “El Escape”, municipio de Cadereyta Jiménez en el ciclo primavera verano 2007, durante una severa epidemia de virosis en tomate, caracterizada por la presencia de plantas con síntomas típicos de begomovirus como clorosis, mosaico amarillos, enrollamiento, enchinamiento y tamaño reducido de las hojas y una reducción en el tamaño de las plantas (Torres-Pacheco *et al.*, 1996; Polston y Anderson, 1997), se recolectaron 15 muestras de hojas jóvenes de plantas de tomate. Las hojas se trasladaron al laboratorio, donde se mantuvieron a -20°C para posteriormente extraer el ADN y detectar la presencia de begomovirus mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Extracción de ADN

El protocolo de extracción de ADN genómico se basó en el método utilizado por Ascencio-Ibañez *et al.* (2007) y consistió en moler 0.1 g de tejido con 750 μl de solución AP (Ascencio-Pruna), compuesto por urea 7%, NaCl 0.35M, EDTA 0.02M y sarcosina 1%. Los ácidos nucleicos resultantes se resuspendieron en agua estéril y se guardaron a -20°C .

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

El ADN total de plantas fue utilizado como molde para las reacciones de PCR. Se utilizaron dos pares de oligonucleótidos degenerados. El primer par CP70-MAC (CAAGCTTGGTTGTGAAGGNCCNTGTAAGGTYCA) (De la Torre-Almaraz, 2006) e YMAC (ACAAGCTTWGASGCATGNGTACATGCCA) (modificado de Monreal-Vargas, 2005) amplifica un fragmento de 570 pares de bases (pb), que corresponde a la

región altamente conservada del gen de la cubierta proteica (CP) de los begomovirus. El segundo par PAL1v1978/PAR1c496, amplifica un fragmento de 1.1 kb (1100 pb) y 1.4 kb (1400 pb) del ADN-A, para los begomovirus de América y del Viejo Mundo, respectivamente; los cuales comprende parte del gen *Rep*, la IR y una porción del gen *CP* (Rojas *et al.*, 1993). Para los dos juegos de oligonucleótidos, el volumen total de la reacción fue de 25 μ l, conteniendo 2.5 μ l Buffer *Taq* DNA polimerasa 1X, 1.25 μ l $MgCl_2$, 1 μ l oligonucleótidos, 0.5 μ l dNTPs, 0.5 μ l *Taq* ADN polimerasa (Roche) y 2 μ l DNA. Como testigos positivos se utilizaron clones con fragmentos de PepGMV, proporcionados por Rafael F. Rivera Bustamante (CINVESTAV-Irapuato). Las reacciones se realizaron en un termociclador Px2 Thermal Cycler, bajo las siguientes condiciones para el primer par de oligonucleótidos: pretratamiento 94°C/2 minutos, seguido de 35 ciclos conformados por 94°C/1 minutos, 55°C/1 minutos, 72°C/1 minutos, con una extensión final de 72°C/5 minutos; y para el segundo par de oligonucleótidos fué de acuerdo a Rojas *et al.* (1993). La valoración de los productos de PCR se realizó por electroforesis en gel de agarosa al 1.0% en solución amortiguadora 1X TAE, teñido con bromuro de etidio, a 80 volts h^{-1} , la visualización de las bandas de DNA se realizo en un transiluminador UV (LS Software).

Clonación y secuenciación

Los productos de PCR obtenidos de las muestras de campo se purificaron con el kit comercial ExoSAP-IT (USB Co.), de acuerdo a las indicaciones del proveedor y analizada en un secuenciador Applied Biosystem 3100 Genetic Analyzer, en el laboratorio de bioquímica molecular de la FES-Iztacala, UNAM. La secuencia nucleotídica obtenida se comparó con secuencias disponibles en la base de datos del GenBank (NCBI),

utilizando el programa BLAST y el método Clustal (MegAlign, DNA Star Software, Madison, WI) (Sanger, 1977).

Fluctuación poblacional e identificación de especies de Mosca blanca

En los ranchos de “El Escape” (manejo orgánico) y “San Luis” (manejo convencional), durante los ciclos agrícolas 2006 y 2007, se colocaron trampas adhesivas amarillas (Ferocon AM) de 23 x 18 cm. Se pusieron un promedio de seis trampas por parcela, cuatro trampas en los márgenes del terreno y dos en el centro, estas fueron colocadas por encima del follaje del cultivo en posición vertical sobre estacas de madera. Las trampas se revisaron y cambiaron con una frecuencia de 7 a 10 días y se contó el número de mosquitas blancas atrapadas en la trampa, graficándose la fluctuación poblacional durante éste período. Los datos de incidencia poblacional fueron utilizados en los modelos Lógico, Monomolecular y Gompertz para determinar su relación con la incidencia de la enfermedad.

Durante el mes de abril de 2007 se realizó una recolecta de hojas de plantas de tomate con ninfas de insectos de moscas blancas. Se prepararon montajes de ninfas del cuarto instar a las que se realizó una punción en la parte lateral, para luego colocarlos en KOH al 10 % por 24 horas, una vez transcurrido este tiempo se eliminó el KOH con agua destilada por 10 minutos; luego se sometieron a una deshidratación progresiva con alcohol etílico a 70, 80, 90 y 96 % por diez minutos, se aclararon con aceite de clavo por cinco minutos, y se montaron en bálsamo de Canadá sobre laminillas (Ortega, 1995). La identificación a nivel de Suborden y Familias se realizó utilizando las claves taxonómicas de Borror y White (1970) y Triplehorn y Johnson (2005). La definición de

especies se realizó mediante las claves taxonómicas de Ortega (1995) y Bellows (1994). Las características morfológicas utilizadas para la identificación de especie fueron: (i) ojos (ii) seta anterior submarginal (iii) Orificio basiforme (iv) seta cauda (v) dobleces marginales de la apertura traqueal posterior y anterior. La confirmación de Género, así como la determinación de especies, las realizó el M.C. Santiago Vergara Pineda.

Incidencia de plantas con síntomas de Begomovirus

En los ranchos de “El Escape” y “San Luis”, durante los ciclos agrícolas 2006 y 2007, se evaluó cada 7-10 días la incidencia de plantas con síntomas de begomovirus. En cada parcela se inspeccionaron 500 plantas de tomate determinando la ausencia o presencia de síntomas. En cada muestreo se seleccionaron aleatoriamente cinco surcos, se contó el número de plantas sanas y enfermas y se calculó el porcentaje de plantas enfermas. La incidencia se determinó por el número de plantas infectadas entre el número de plantas totales por 100. (Holguín-Peña *et al.*, 2004).

Análisis epidemiológico

Los datos de incidencia de plantas con síntomas de virosis, se graficaron y se sometieron a análisis estadísticos para encontrar el modelo epidemiológico que mejor describe el incremento de la enfermedad. Los modelos utilizados fueron el Monomolecular, Logístico y de Gompertz. El mejor ajuste se determinó en base a su coeficiente de determinación, dichas relaciones se consideraron cuando los valores de R^2 fueran mayores a 0.90 y una distribución gráfica uniforme de los residuales de cada modelo (Campbell y Madden, 1990). El análisis se realizó con el paquete estadístico Statistics Analysis System (SAS) versión 9.1.3.

Manejo del cultivo y su efecto en la incidencia de la enfermedad

Los ranchos en los que se realizó éste trabajo se seleccionaron por su diferente manejo agronómico, para estar en posibilidades de evaluar su efecto en la población de mosquita blanca y en la incidencia de la enfermedad.

Manejo orgánico

El rancho “El Escape” está certificado para cosechar productos orgánicos y por lo tanto el manejo de plagas está limitado al uso de control biológico, y aplicación de plaguicidas orgánicos. El manejo fitosanitario del tomate consistió en:

1. La siembra en almácigo; se realizó utilizando charolas de 200 cavidades, previamente desinfectadas por inmersión en agua a 68°C durante 10 segundos; se sembraron 200 semillas variedad –Gironda (Enza Zaden México, S.A. de C.V.), el sustrato que se utilizó fue Sunshine certificado orgánico (mezcla de turba, vermiculita, piedra caliza, yeso agrícola y agente humectante), después de la siembra se aplicó Algaenzims (extractos de algas marinas del género *Sargassum*), con el objetivo de estimular el desarrollo radicular.
2. La fertilización se realizó con compostas preparadas en el rancho, y aplicada mediante sistema venturi.
3. Para el control de insectos se utilizaron extractos de Neem (*Azadirachta indica*) [Azatina], de Ajo (*Allium sativum* L.) y Cebolla (*Allium cepa*).

Manejo convencional

El Rancho “San Luis” destina la producción al mercado nacional y de exportación, y maneja las plagas de tomate con agroquímicos convencionales, los cuales se describen a continuación:

1. La siembra en almácigo se realizó en charolas de 200 cavidades, previamente desinfectadas con Previcur 72 SL (Propamocarb clorhidrato) y Derosal 500 SC (Carbendazim), se sembraron 200 semillas variedades –Roma Mariana, Toro y Estellas, el sustrato que se utilizó fue Cosmopeat (turba de esfagno), después del trasplante se aplicó Rootex (Auxinas, aminoácidos y NPK), con la finalidad de inducir la emisión de raíces, así como favorecer el crecimiento de la planta.

2. La fertilización se realizó usando productos comerciales aplicados al suelo por fertirrigación conteniendo N, P, K, elementos menores, y hormonas vegetales. La recomendación de nutrición se basó en el análisis de suelo y monitoreo durante el ciclo del cultivo con la asesoría técnica de la compañía Cosmocel.

3. La aplicación de agroquímicos se realizó una vez por semana por aspersión vía terrestre con tractor. Insecticidas agrícolas: Thiacloprid, Imidacloprid, Endosulfán, Benzoato de emamectina; Fungicidas: Metalaxil-Mancozeb, Tiofanato metílico, Mancozeb; Bactericidas: sulfato de cobre, sulfato de estreptomicina y clorhidrato de oxitetraciclina.

Resultados y discusión

Identificación de virus por ELISA

Excepto por tres muestras, las 135 hojas de plantas enfermas resultaron negativas a la presencia de los virus TSWV, CMV, TMV, ToMV, TRSV y ToRSV. En el rancho “San Luis”, una planta de tomate (*Lycopersicon esculentum*) resultó positiva a PVY, una de tomatillo (*Physalis ixocarpa*) y una de girasol (*Helianthus annuus*) a AMV. Los síntomas de la planta de tomate infectada con PVY fueron, mosaico, moteado foliar de color amarillo intenso, encrespamiento y reducción en el tamaño de las hojas (Figura 1). Así mismo, los síntomas de las plantas de tomatillo y girasol fueron mosaico y moteado foliar de color amarillo intenso y deformación de hojas (Figura 2). El que no se detectaran éstos virus en la mayoría de las muestras y el diagnóstico positivo de begomovirus en la muestras analizadas (ver identificación de begomovirus) indica que la epidemia del enchinamiento del tomate en Nuevo León, es causada por begomovirus. Adicionalmente, los síntomas observados en campo, concuerdan con los reportados para begomovirus. En Tomate no se detectó la presencia de AMV, a pesar de que existían malezas infectadas como *Helianthus annuus* en el área de cultivo y que éstas han sido reportadas como importantes fuentes de inóculo de AMV para el cultivo de chile (Avilés 1995).

Identificación de *begomovirus*

El método de detección de begomovirus por PCR con los oligonucleótidos CP70-MAC/YMAC y PAL1v1978/PAR1c496, se aplicó a muestras de plantas de tomate, chile, tomate de cáscara y girasol que manifestaban síntomas virales característicos de

begomovirus. Sin embargo, al purificar el ADN de las muestras de plantas enfermas de Cadereyta se observaron diferencias en cuanto a su cantidad y calidad. Por lo que se seleccionaron las cinco muestras con mejor calidad y cantidad de ADN.



Figura 1. Síntomas del virus Y de la papa (PVY) en condiciones de campo, en parcelas de tomate de Montemorelos; Nuevo León.



Figura 2. Síntomas del virus mosaico de alfalfa (AMV) en condiciones de campo. A) Girasol (*Helianthus annuus* L.); B) Tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa*) en parcelas de tomate de Montemorelos; Nuevo León.

En las reacciones de PCR realizadas con las cinco muestras de ADN se obtuvieron amplificaciones de 570 pb (Figura 3) que corresponden con el esperado para begomovirus bipartitas del Nuevo Mundo, a diferencia de las amplificaciones de 700 pb que se esperaría obtener cuando se amplifica ADN de plantas infectadas con TYLCV, un begomovirus monopartita originario del Viejo Mundo (Holguín-Peña *et al.*, 2003). Esto indica que el virus prevaleciente en el cultivo de tomate en Cadereyta es un begomovirus. Se obtuvo también el fragmento esperado de 1.1 kb, con los oligonucleótidos PAR1c496/PAL1v1948 (Figura 4).

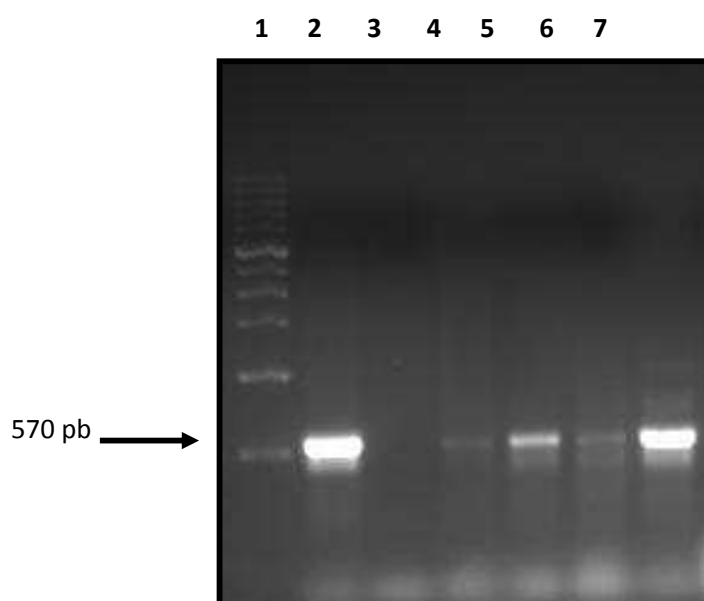


Figura 3. Electroforesis en gel de agarosa (1%) de productos de PCR amplificados con iniciadores CP70/YMAC (570 pb). Carril 1, marcador de peso molecular 1 Kb-Amresco; carril 2, control positivo de geminivirus bipartita (*Pepper golden mosaic virus-PepGMV*); carril 3, control negativo (agua desionizada estéril); carriles 4 a 7= Tomate, Cadereyta.

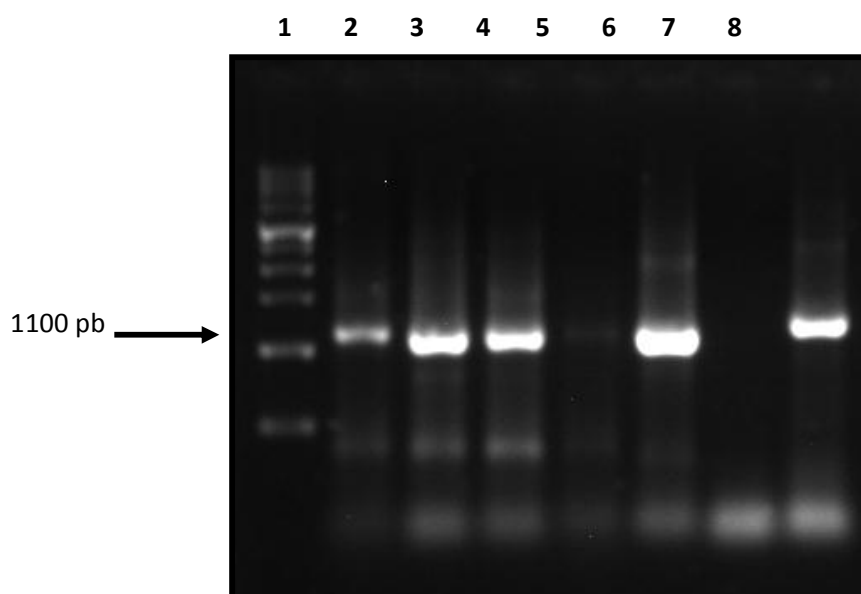


Figura 4. Electroforesis en gel de agarosa (0.8 %) de productos de PCR amplificados con iniciadores PAR1c496/PAL1v1978 (1100 pb). Carril 1, marcador de peso molecular 1 Kb-Amresco; carriles 2 a 6, Tomate, Cadereyta; carril 7, control negativo (agua desionizada estéril); carril 8, control positivo de geminivirus bipartita (*Pepper golden mosaic virus*-PepGMV).

En la Figura 5, se puede apreciar la sintomatología en las plantas de tomate, en el follaje se observa clorosis, severo enrollamiento de las hojas, mosaico amarillo y una reducción en el tamaño de las plantas, estos síntomas corresponden a los observados por infecciones geminivirales en otras partes del país. Por ejemplo, en la región de la huasteca, Tamaulipas (Garzón-Tiznado *et al.*, 2001; Polston y Anderson, 1997; Torres-Pacheco *et al.*, 1996) y Sinaloa (Brown y Nelson, 1988).

Los productos de PCR de la región del gen *Rep*, la IR y una porción del gen *CP* derivados de las muestras de Cadereyta Jiménez se secuenciaron. La comparación de estas secuencias con las disponibles en la base de datos del GenBank reveló que las

muestras de tomate de Nuevo León, son similares a la del *Tomato severe leaf curl virus*, cepa San Luis Potosí (GenBank acc. no. DQ347947), y el porcentaje de similitud con este virus fue de 97 %. De igual forma Holguín-Peña *et al.* (2003) en el cultivo de tomate, en las regiones productoras de Baja California Sur ha identificado al virus del enrollamiento severo de la hoja del tomate (TSLCV).

En el dendrograma de la Figura 6, se establece la relación filogenética entre los aislados de virus de Cadereyta, y su relación con otros begomovirus. La secuencia nucleotídica del gen *Rep*, la IR y una porción del gen *CP* y su comparación en la base de datos del GenBank (NCBI), confirmaron la presencia de un geminivirus en Cadereyta Jiménez. De acuerdo a los resultados presentados en este estudio, se concluye que en NL existe un begomovirus no reportado previamente.



Figura 5. Síntomas asociados a infecciones por begomovirus en tomate en Cadereyta; Nuevo León. A) Enanismo arbustivo, acucharamiento de hojas, deformación de las hojas y mosaico; B) Entrenudos cortos y tamaño reducido de las hojas nuevas y ápices.

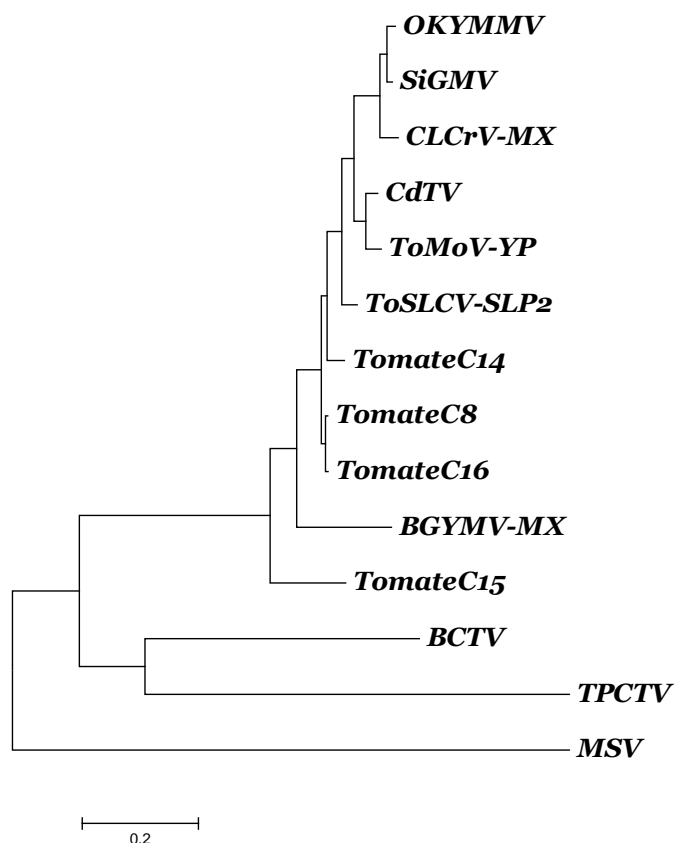


Figura 6. Relación filogenética de las secuencias de aislados de tomate en Cadereyta, NL con el begomovirus ToSLCV de San Luis Potosí. Para la elaboración del dendrograma se comparó la región genómica CP70 (570 pb).

Fluctuación poblacional de mosquita blanca

La especie de mosquita blanca asociada al tomate en Cadereyta y Montemorelos fue *Bemisia argentifolii* Bellow y Perring o mosquita blanca de la hoja plateada “Biotipo B” (Figura 7), coincidiendo esto con los resultados de Holguín-Peña *et al.* (2003) quien registró la misma especie en 12 regiones agrícolas (alrededor de 800 ha) de las regiones hortícolas de BCS.

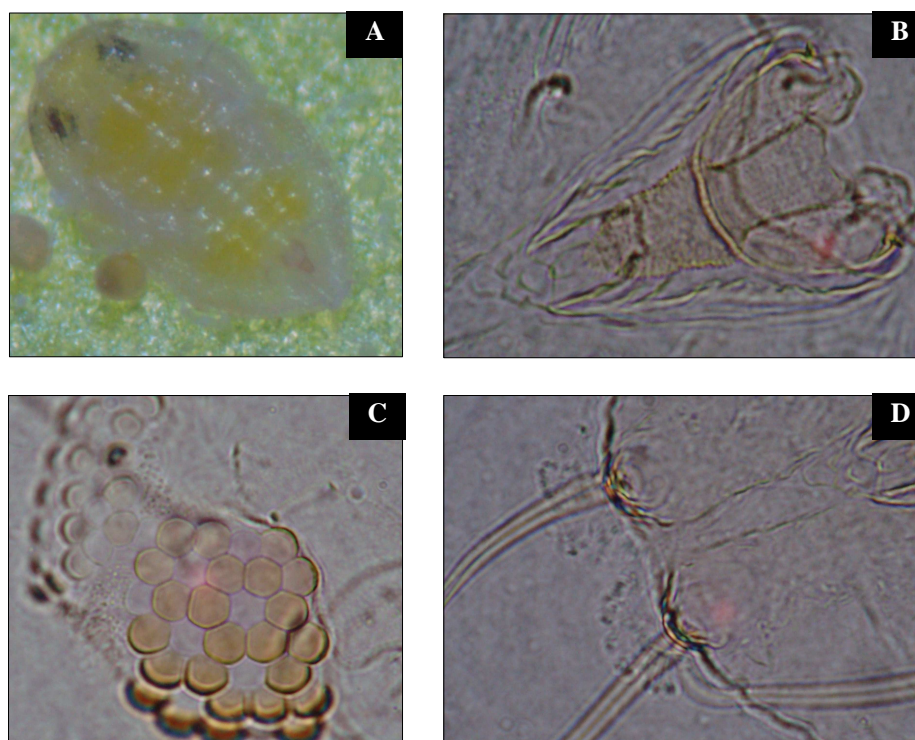


Figura 7. Características de las pupas de *Bemisia argentifolii*. A) Pupa de 4° instar ninfal; B) Orificio vasiforme de forma triangular; C) Ojo compuesto de una hembra adulto; D) Las proyecciones cerosas del pliegue traqueal posterior no rebasan lateralmente a las setas caudales (Bellows *et al.*, 1994).

El comportamiento de la población de mosca blanca durante los ciclos otoño-invierno 2006 y primavera-verano 2007 en el rancho “San Luis”, Montemorelos y en el Rancho “El Escape”, Cadereyta; varió según la ubicación de las parcelas, el ciclo de cultivo y el manejo agronómico que el productor aplicó al cultivo (Figura 8). En el Rancho “El Escape” (Figura 8b) en el ciclo otoño-invierno se presentan ligeras irrupciones. No obstante, en el ciclo primavera-verano, el proceso de invasión inicio a partir de los 31 días (9 de abril), cuando se empieza a registrar un incremento de individuos capturados de una manera ascendente, presentándose así el primer pico poblacional de arriba entre el 09 y 13 de abril, llegando a registrarse el día 09 de abril, una media de 478 individuos.

Para el día 08 de mayo la población declina. En el Rancho “San Luis” (Figura 8a); durante el ciclo otoño-invierno se presentaron ligeras irrupciones sin importancia. Sin embargo, el día 19 de octubre se registra un incremento de individuos capturados, presentándose el primer pico poblacional de arribo. Posteriormente, en el ciclo primavera-verano entre los días 29 de marzo y 21 de abril se presentó un segundo pico poblacional, llegando a registrarse el día 29 de marzo hasta 49 individuos, esto es a partir de los 44 días. Esto explica porque son más frecuentes los siniestros por virosis en el ciclo primavera-verano en Nuevo León y porque los productores prefieren evitar la producción de tomate en éste ciclo. Nuestros resultados concuerdan con Avilés *et al.* (2004), quienes reportan en Sinaloa la presencia de moscas blancas sobre tomate, a partir de marzo, alcanzando el máximo poblacional en abril y mayo, y muy pocas capturas en el resto de los meses del año.

Interacción-hospedero-vector-patógeno

La epidemia de enchinamiento del tomate en Cadereyta, se incrementó logarítmicamente como corresponde a las enfermedades que se transmiten de planta a planta durante el ciclo de cultivo (Campbell y Madden, 1990; Kranz, 1974). El modelo que mejor se ajustó al desarrollo de la enfermedad fue el Logístico ($R^2 \geq 0.91$). La velocidad de incremento de la enfermedad fue de 0.13 a 0.09 en los ranchos “El Escape” y “San Luis”, respectivamente (Figura 9). Esta velocidad de incremento puede considerarse como explosiva, pues en menos de 28 días pasa de 8 % de incidencia a 100 %.

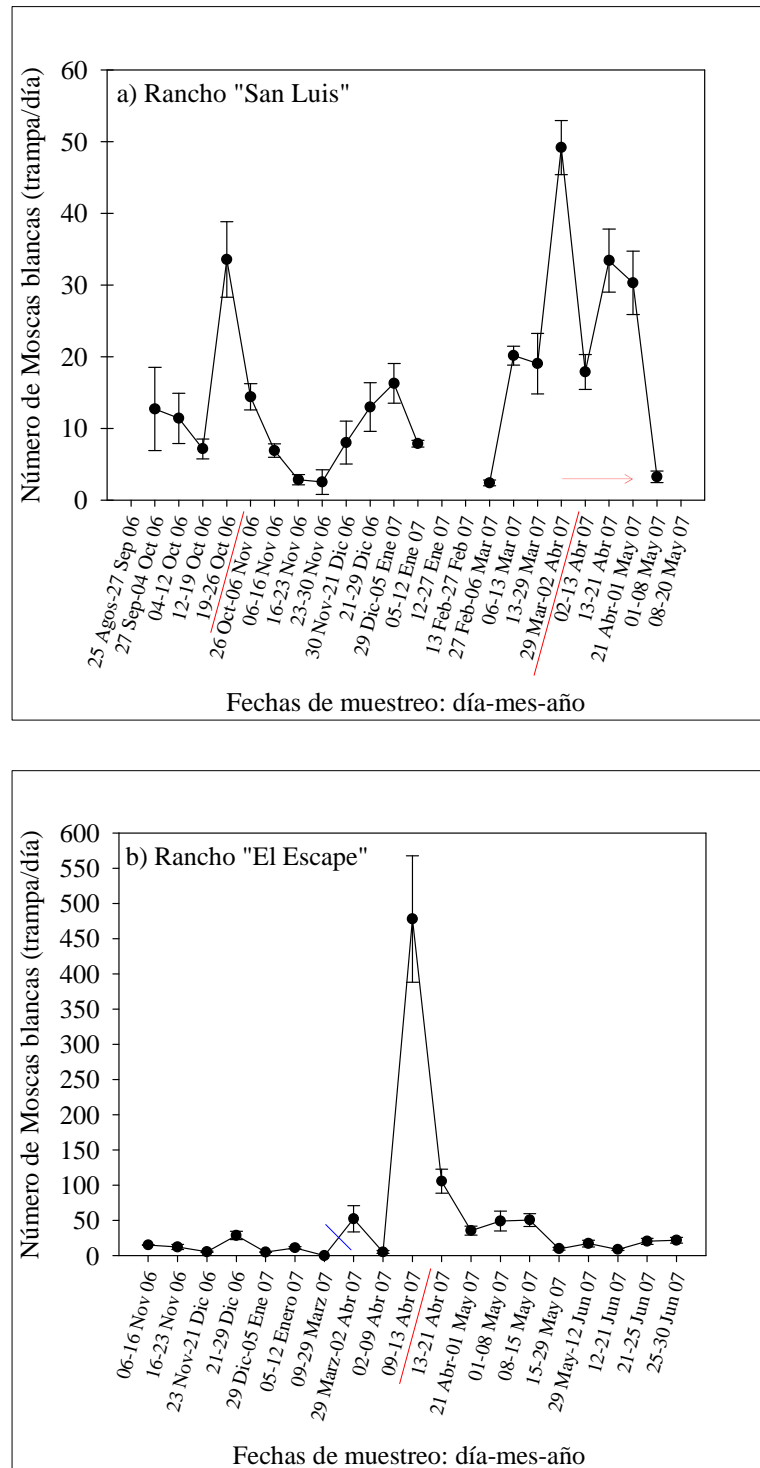


Figura 8. Fluctuación poblacional (Media \pm ES) de Moscas blancas colectadas en trampas amarillas pegajosas en tomate. a) Rancho "San Luis", Montemorelos; b) Rancho "El Escape", Cadereyta, NL. (2006-2007).

Por otra parte el desarrollo de la población de mosquita blanca sigue prácticamente la misma tendencia que la enfermedad, aunque inicia de 23-28 días antes; es decir, el incremento de la población de mosquita blanca precede el incremento de enfermedad. Este desfase de 23-28 días entre el desarrollo de la población de mosquita y la incidencia de la enfermedad, es el período de incubación del virus en la planta desde que es inoculado por el vector, hasta que presenta los primeros síntomas. La explosividad de la enfermedad y su relación con el incremento de la población de mosquita blanca, indican que para manejar adecuadamente ésta plaga debe controlarse la población en promedio 23-28 días antes de que aparezcan las primeras plantas enfermas, lo que en la práctica significa que debe manejarse al vector desde el trasplante para evitar la explosión de su población. Al respecto, Guigón (1999), reporta un intervalo de 41 ± 2 días entre el arribo del vector y el desarrollo de los síntomas por virosis en el cultivo de chile; en el sur de Chihuahua; así mismo Bravo-Luna (1997) reporta para el virus texano del chile variante Coahuila en etapa de plántula de 10.43 a 12.4 días, mientras que en la etapa de floración varío de 10.5 a 27.3 días y Rangel (1995) reporta 15 días en el desarrollo de la enfermedad en parcelas con control de maleza en Ramos Arizpe, Coahuila.

Manejo de la enfermedad

La incidencia de la enfermedad cambió de acuerdo con el manejo fitosanitario que recibió el cultivo de tomate durante el ciclo de producción. El manejo convencional que se realizó en el rancho “San Luis”, en el 2006, se reflejó en una menor población de mosquita blanca y una baja incidencia de virosis en el cultivo (Figura 10).

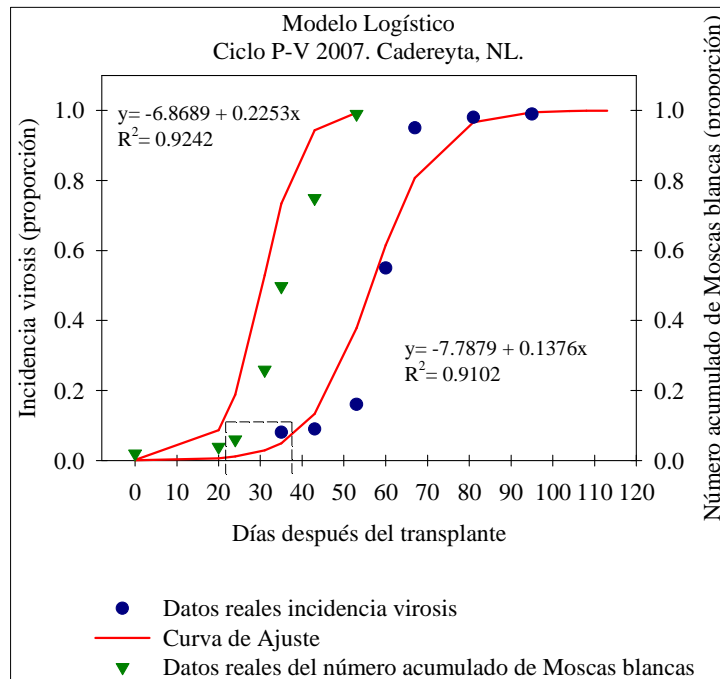
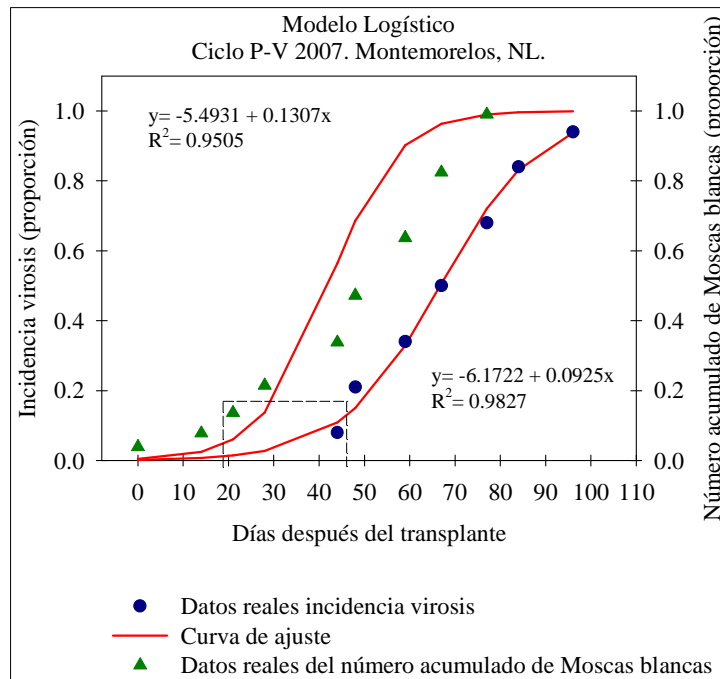


Figura 9. Relación entre la epidemia del enchinamiento y la población de moscas blancas en tomate en el ciclo P-V (2007). Las regresiones que aparecen en el gráfico son significativas al $\alpha = 0.05$.

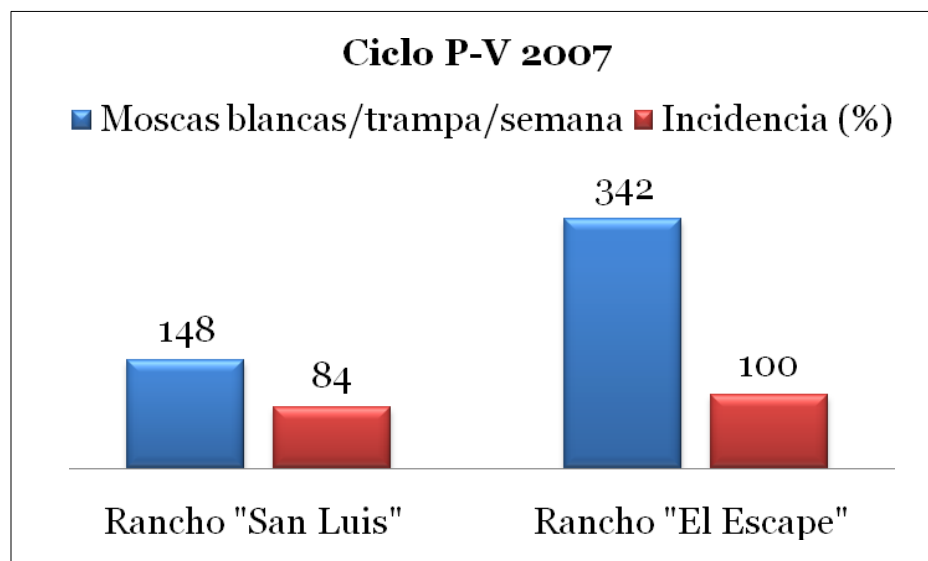
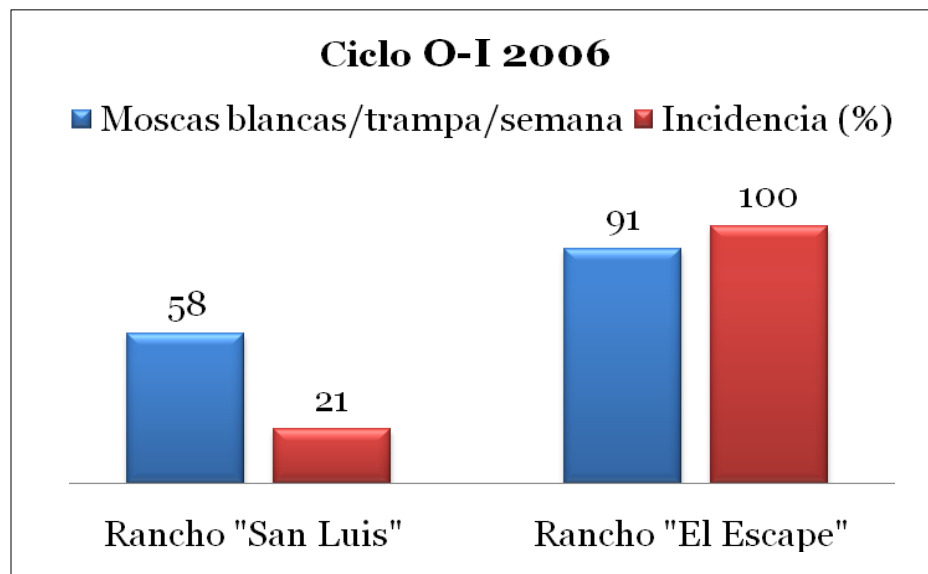


Figura 10. Promedio de adultos de mosquita blanca *Bemisia* sp. e incidencia en los manejos de plagas realizados en tomate (2006-2007). a) Evaluación de extractos vegetales en el cultivo en el Rancho "El Escape", Cadereyta Jiménez; b) Evaluación de productos en el cultivo en el Rancho San Luis, Montemorelos, NL.

La mayor incidencia de la enfermedad (100%) se presentó en la parcela manejada orgánicamente lo que quiere decir que el control de mosquita blanca no fue efectivo con los extractos vegetales de neem, cebolla y ajo. En contraste, cuando se realizó un control de vectores con insecticidas convencionales específicos para moscas blancas, desde el almácigo hasta la floración, la incidencia de la enfermedad se mantienen en niveles bajos (21%).

Conclusiones

Se determinó que el agente causal del enchinamiento severo del tomate es el begomovirus *Tomato severe leaf curl virus* aislado Rioverde-SLP2 de San Luis Potosí, con un porcentaje de similitud de 97%. La ausencia de los virus TSWV, CMV, TMV, ToMV, TRSV y ToRSV y las bajas incidencia del PVY y AMV en las muestras procesadas por ELISA indican que, el virus predominante es el ToSLCV. La especie de mosquita blanca asociada al tomate en Cadereyta y Montemorelos es *B. argentifolii*. La fluctuación poblacional durante el ciclo primavera-verano 2007 para el Rancho “El Escape”, con manejo orgánico presentó un pico poblacional de arribo, el día 09 de abril con una media de 478 individuos/trampa/día. Así mismo, en el Rancho con manejo convencional “San Luis”, se presentó el día 29 de marzo un pico poblacional, llegando a registrarse una media de 49 individuos/trampa/día. El modelo epidemiológico que mejor se ajusto al desarrollo de la epidemia causada por virus en tomate fue el modelo logístico, con una velocidad de incremento de 0.0925-0.1376. El período de incubación del virus en la planta desde que es inoculado por el vector, hasta que presenta los

primeros síntomas es de 23 a 28 días, estos datos indican que para manejar adecuadamente ésta plaga debe controlarse la población en promedio 23-28 días antes de que aparezcan las primeras plantas enfermas. El sistema de manejo que presentó menores incidencias de la enfermedad y población de mosca blanca fue el manejo convencional que se aplicó en el rancho “San Luis” en Montemorelos. Sin embargo, el control debe consistir en que no arriben los insectos a la parcela. El manejo convencional que se realizó en el rancho “San Luis”, en el 2006, se reflejó en una menor población de mosca blanca y una baja incidencia de virosis en el cultivo.

Literatura citada

- ◆ Ascencio-Ibáñez, J.T., Díaz-Plaza, R., Méndez-Lozano, J., Monsalve-Fonnegra, Z.I., Argüello-Astorga, G.R., y Rivera-Bustamante, R.F. 1999. Primer informe del geminivirus en Yucatán, México del enrollamiento de la hoja del amarillo del tomate. *Enfermedad de Planta* 83:1178.
- ◆ Ascencio-Ibáñez, J.T., Settlege, S.B. 2007. DNA abrasion onto plants is an effective method for geminivirus infection and virus-induced gene silencing. *Journal of Virology Methods* 142: 198-203.
- ◆ Avilés G.M.C. 1995. Identificación de hospedantes de mosca blanca determinado presencia de estados de desarrollo en cultivos, maleza, ornamentales y otros. Valle de Culiacán. Valle de Culiacan. Mosquita blanca en el Noroeste de México. Informe de investigación. Memoria científica No. 1. INIFAP-CIRNO. 51 p.
- ◆ Avilés G.M.C., U. Nava C., Garzón T., J.J Wong P. y J.J. Pérez V. 2004. Manejo integrado de la mosca blanca *Bemisia* sp., en tomate para consumo en fresco. INIFAP-CIRNO. Campo Experimental Valle de Culiacán. Folleto Técnico No. 28. Culiacán, Sinaloa, México. 76 p.

- ◆ Bravo, L. 1997. Importancia de Fuentes de inoculo y vector en la incidencia del virus texano del chile var. Coahuila y la resistencia a la enfermedad en 5 genotipos de *Capsicum annum*. Tesis de Maestría en Ciencia. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. P. 63.
- ◆ Bellows, T. S. Jr, Perring, T. M., Gill, R. J., and Headrick, D. H. 1994. Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleurodidae). *Annals of the Entomological Society of America* 87: 195-206.
- ◆ Borror, D. J. and R. E. White. 1970. *A Field Guide to Insects America North of México*. The Peterson Field Guide Series. Houghton Mifflin Company Boston New York. 404. pp.
- ◆ Brown, J.K., and Nelson, M.R. 1988. Transmission, host range, and virus-vector relationships of *Chino del tomate virus*, a whitefly-transmitted geminivirus from Sinaloa, Mexico. *Plant Disease* 72:866-869.
- ◆ Brown, J.K., and Bird, J. 1992. Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Disease* 76:220-225. Agropecuaria, SAGAR. México. p. 23.
- ◆ Campbell, C.L., and Madden, L.V. 1990. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. John Wiley & Sons, New York. 532 p.
- ◆ Clark, M. F., and A. M. Adams. 1977. Characteristics of microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*. 34: 475-483.
- ◆ Cruz, F.M., y Frías, T.G.A. 1997. ELISA. Guía Ilustrada de la prueba de Inmunoadsorción con enzimas ligadas para la detección de fitopatógenos. Comisión Nacional de Sanidad Vegetal, SAGAR. México.
- ◆ Díaz-Plaza R., Avilés-Baesa, W., Torres-Pacheco I., Rivera-Bustamante R. F. 1998. Temporal Distribution of Geminivirus in North Yucatan, México. Abstracts International Workshop on Bemisia and Geminiviruses, San Juan, Puerto Rico.
- ◆ De la Torre-Almaraz R, Monsalvo-Reyes A, Romero-Rodríguez A., Argüello-Astorga G. R., Ambriz-Granados S. 2006. A new begomovirus inducing yellow mottle in okra crop in Mexico is related to Sida yellow vein virus. *Plant Disease* 2006. 90:378.

- ◆ Garzón-Tiznado, J.A., y Galindo-Alonso, J. 1995. La “planta atigrada” del chile (*Capsicum annuum*) en la región de valsequillo, puebla. Revista Mexicana de Fitopatología 3:10-13.
- ◆ Garzón-Tiznado, J.A., Acosta-García, G., Torres-Pacheco, I., González-Chavira, M., Maya-Hernández, V., Guevara- González, R.G., y Rivera-Bustamante, R.F. 2001. Presencia de los geminivirus, huasteco del chile (PHV), texano del chile variante Tamaulipas (TPV-V), y chino del tomate (CdTV), en los estados de Guanajuato, Jalisco y San Luis Potosí, México. Revista Mexicana de Fitopatología 20:45-52.
- ◆ Guigon L. C. 1999. Epidemiología y manejo de la virosis del chile (*Capsicum annuum*, L.) en el sur de Chihuahua. CIRENa. 25 p.
- ◆ Holguín-Peña, R. J., Vázquez-Juárez, R., Mejía-Ruíz, H. 2003. Geminivirus en Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y Rango de Hospedantes en Baja California Sur, México. Revista Mexicana de Fitopatología 22: 107-116.
- ◆ Holguín-Peña, R. J., Vázquez-Juárez, R., Mejía-Ruíz, H. 2004. Rango de Hospedantes, Incidencia y filogenia del Virus del Mosaico Dorado del chile (PepGMV) en Baja California Sur, México. Revista Mexicana de Fitopatología 22: 206-215.
- ◆ Kranz, J. 1974. Comparison of epidemics. Annual Review of Phytopathology. 12:355-374.
- ◆ Ortega, A.L.D. 1995. Colecta, montaje y determinación de Aleyrodidae. Fitofilo (México). 88 (XLVIII): 53-70.
- ◆ Monreal-Vargas, C.T. 2005. “Desarrollo de métodos de diagnóstico molecular de enfermedades virales, bacterianas y fúngicas en hortalizas”. Tesis de Maestría en Biología Molecular, IPICYT.
- ◆ Padidam, M., Beachy, R.N., and Fauquet, C.M. 1995. Classification and identification of geminiviruses using sequence comparisons. Journal of General Virology 76:249-263.
- ◆ Polston, J.E., and Anderson, P.K. 1997. The emergence of whitefly-transmitted Geminiviruses in tomato in the Western Hemisphere. Plant Disease 81(12):1358-1369.

- ◆ Rangel-Ceja, U. 1995. Control de malezas para retardar el Arribo de Mosca Blanca *Bemisia tabaci* Genn y su Relación con la Transmisión del Virus del Rizado Amarillo del Chile en Ramos Arizpe, Coahuila. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. p. 63.
- ◆ Rojas, M.R., Gilbertson, R.L., Russell, D.R., and Maxwell, D.P. 1993. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. *Plant Disease* 77:340-347.
- ◆ Rojas, A., Kvarnheden, A., and Valkonen, J.P.T. 2000. Geminiviruses infecting tomato crops in Nicaragua. *Plant Disease* 84:843-846.
- ◆ Sanger F., S. Nicklen and Coulson A., R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *The Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A* 74: 5463-5467.
- ◆ SIAP. 2007. Servicio de información agroalimentaria y pesquera. <http://www.siap.gob.mx>.
- ◆ Torres-Pacheco, I., Garzón-Tiznado, J.A., Brown, J.K., Becerra-Flora, A., and Rivera-Bustamante, R.F. 1996. Detection and distribution of geminiviruses in Mexico and the Southern United States. *Phytopathology* 86:1186-1192.
- ◆ Triplehorn, C. A. and N. F. Johnson. 2005. Borror and Delong's introduction to the study of insects. 7th Edition Thompson, Brooks/Cole. pp 864.

Agradecimientos

Se agradece a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) y a Fundación Produce Nuevo León, A. C. por el apoyo económico otorgado mediante el proyecto titulado "Sistemas de monitoreo para la prevención y control de plagas y enfermedades en los cultivos de chile verde, tomate rojo, tomatillo y calabacita" (19-2006-0658; al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT); Dr. R.F. Rivera-Bustamante, (CINVESTAV-IPN) y M. en C. A. Monsalvo-Reyes, FESI UNAM.

LITERATURA CITADA

- Ascencio-Ibañez J. T., Díaz-Plaza R., Méndez-Lozano J., Monsalve F. Z. I., Arguello-Astorga G. R., Rivera-Bustamante R. F. 1999. First report of Tomato yellow leaf curl geminivirus in Yucatan, Mexico. *Plant Disease* 83:1178
- Ascencio-Ibañez, J. T., Monsalve-Fonnegra, Z. I., Pruna-Camacho, M. B., Díaz-Plaza, R. y Rivera-Bustamante, R. F. 2000. Los Geminivirus. *Revista Mexicana de Fitopatología* 17:113-127.
- Bedford, I. D., Briddon, R. W., Brown, J. K., Rosell, R. C., and Markham, P. G. 1994. Geminivirus transmission and biological characterization of *Bemisia tabaci* biotypes from different world regions. *Annals of Applied Biology* 125:311-325.
- Bellows, T. S. Jr, Perring, T. M., Gill, R. J., and Headrick, D. H. 1994. Description of a species of *Bemisia* (Homoptera:Aleurodidae). *Annals of the Entomological Society of America* 87:195-206.
- Brown, J. K., and Bird, J. 1992. Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Disease* 76:220-225.
- Brown, J. K., Frohlich, D. R., Rosell, R. C. 1995. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: Biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex? *Annual Review of Entomology* 40:511-534.
- Brown, J. K. y Nelson, M. R. 1988. Transmission, host range, and virusvector relationships of chino del tomate, a whitefly--transmitted geminivirus from Sinaloa, Mexico. *Plant Disease* 72:866-869.
- Cambell, C.L., and Maden, L.V. 1990. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. John Wiley & Sons, New York. 532 p.
- Czosnek H., Ghanim M., Ghanim M. 2002. The circulative pathway of begomoviruses in the whitefly vector *Bemisia tabaci*- insights from studies with *Tomato yellow leaf curl virus*. *Annals of Applied Biology*. 140:215-231.
- Canno, R., Avila, G., Nava, C., López, R., Rangel, S., Blanco, C., Jiménez, D. 2000. Plantas hospedantes de la mosquita blanca de la hoja plateada *Bemisia argentifolii* en la Comarca Lagunera, Coahuila, México. *Folia Entomologica Mexicana* 40:53-64.

- Costa A.S. 1969. White Flies as Virus Vectors in *Viruses, Vectors and Vegetation*, Ed. Maramorosch K. Interscience Publishers, pp 95-119.
- Costa A.S. 1976. Whitefly-transmitted Plant Diseases. *Annual Review of Phytopathology* 14:429-449.
- De Santiago, J. 2005. Mercados del tomate. *Productores de Hortalizas* Año 14, No. 8, p. 32.
- Duffus, J.E. 1985. "Whitefly-borne virus" *Phytoparasitica*. 13(3-4):274.
- FAO, Base de Datos en línea. 2004. <http://faostat.fao.org/faostat>.
- Fauquet, C. M., Bisaro, D. M., Briddon, R. W., Brown, J. K., Harrison, B. D., Rybicki, E. P., Stenger, D. C., and Stanley, J. 2003. Revision of taxonomic criteria for species demarcation in the *Geminiviridae*, and updated list of begomovirus species. *Archives of Virology* 148:405-421.
- Garzón-Tiznado, J.A., Acosta-García, G., Torres-Pacheco, I., González-Chavira, M., Maya-Hernández, V., Guevara-González, R.G., y Rivera-Bustamante, R.F. 2001. Presencia de los Geminivirus, Huasteco del Chile (PHV), Texano del Chile variante Tamaulipas (TPV-V), y Chino del Tomate (VCdT), en los Estados de Guanajuato, Jalisco y San Luis Potosí, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 20:45-52.
- Guzmán, R., Arredondo, C. R., Emmatty, D., Portillo, R. J. , Gilbertson, R. L. 1997. Partial characterization of two whitefly-transmitted geminiviruses infecting tomatoes in Venezuela. *Plant Disease* 81:312.
- Holguín-Peña, R. J., Vázquez-Juárez, R., Mejía-Ruíz, H. 2004. Geminivirus en Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y Rango de Hospedantes en Baja California Sur, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22:107-116.
- Jones, J.B. 2001. Plagas y enfermedades del tomate. J.P. Jones, R.E. Stall, and T.A. Zitter (eds.). *Mundi-Prensa, The American Phytopathological Society*. p. 74.
- Kranz, J. 1974. Comparison of epidemics. *Annual Review of Phytopathology* 12:355-374.
- Lastra, J. R., y De Uzategui, R. C. 1975. Viruses affecting tomatoes in Venezuela. *Phytopathol.* 84:253-258.
- Lazarowitz, S. G. 1992. Geminiviruses: Genome structure and gene function. *Critical Reviews in Plant Sciences* 11:327-329.

- Liu, L., Van Torden, T., Pietersen, G., Davies, J. W. and Stanley, J. 1997. Molecular characterization of a subgroup I geminivirus from a legume in South África. *Journal of General Virology* 78:2113-2117.
- Liu, S., Briddon, R. W., Bedford, I. D., Pinner, M. S. & Markham, P. G. 1999. Identification of genes directly and indirectly involved in the insect transmission of African cassava mosaic geminivirus by *Bemisia tabaci*. *Virus Genes* 18:5-11.
- Luko, H. 2002. "Mosca blanca al Día" Manejo Integrado de Plagas y Agroecología Costa Rica. 65:114-115.
- McGlashan, D., Polston, J. E., y Bois, D. 1994. Tomato yellow leaf curl geminivirus in Jamaica. *Plant Disease* 78:12-19.
- Maroto, J. 1994. *Horticultura herbácea especial*. 611 p. Mundi-Prensa, Madrid, España.
- Matthews, R. E. F. 1991. *Plant Virology*. Third edition. Academic Press. New York. 835 pp.
- Monsalve-Fonnegra, Z. I., Argüello-Astorga, G. R., and Rivera-Bustamante, R.F. 2002. Geminivirus replication and gene expression in plant viruses as molecular pathogens. *The Haworth press*. USA. 257-277.
- Morales, F. J., Jones, P. G. 2004. The ecology and epidemiology of whitefly-transmitted viruses in Latin America. *Virus Research*. 100:57-65.
- Palmer, K. E. and Rybicki, E. P. 1998. *The Molecular Biology of Mastreviruses*. *Advances in Virus Research* 50:183-233.
- Picken, A.; K. Sterwart., and D. Klapwijk. 1986 Germination and vegetative development. p 111-166. In Atherton, J., and J. Rudich. (eds.). *The Tomato Crop*. Chapman and Hall, London, England.
- Polston, J. E., and Anderson, P. K. 1997. The emergence of whitefly transmitted geminiviruses in tomato in the Western Hemisphere. *Plant Disease* 81:1358-1370.
- Polston, J. E., Chellemi, D. O., Schuster, D. J., McGovern, R. J., y Stansly, R. A. 1996. Spatial and temporal dynamics of tomato mottle geminivirus and *Bemisia tabaci* in Florida tomato fields. *Plant Disease*. 80:1022-1028.
- Polston, J. E., Bois, D., Keinath, A. P., y Chellemi, D. O. 1995. Ocurrance of tomato mottle geminivirus in South Carolina, Tennessee and Virginia. *Plant Disease* 79:539.

- Polston, J. E., Bois, D., Serra, C. A., y Concepción, S. 1994. First report of tomato yellow leaf curl-like geminivirus from tomato in the Western Hemisphere. *Plant Disease* 78:831
- Posos-Ponce, P., Fregoso F. E. 2004. Mosquita blanca biología, hábitos y control. Universidad de Guadalajara. 119 p.
- Ramos, P. L., Guerra, O., Dorestes, V., Ramírez, N., Rivera-Bustamante, R., Oramas, P. 1996. Detection of TYLCV in Cuba. *Plant Disease* 80:1208.
- Rick, C. M. 1995. Tomato *Lycopersicon esculentum* (Solanaceae). p 452-457. In: Simmons, N.W. (ed.). *Evolution of Crop Plants*. Longman, London, England.
- Salomón, M., Ortega, A., González, H., Villanueva, J. 2002. Influencia de arvenses sobre le complejo mosca blanca-virosis-parasitoides en Veracruz, México. En *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología Costa Rica CATIE*. 65(3) 75:81 p.
- SIAP. 2008. Servicio de información agroalimentaria y pesquera. <http://www.siap.gob.mx>.
- Simone, G.W., Brown, J.K., Hiebert, E., and Cullen, R.C. 1990. Geminiviruses associated with epidemics in Florida tomatoes and pepper. *Phytopathology* 80:1063.
- Stenger, D. C., Duffus, J. E. y Villalon, B. 1990. Biological and genomic properties of a geminivirus isolated from pepper. *Phytopathology* 80:704-709.
- Torres-Pacheco, I., Garzón-Tiznado, J. A., Brown, J. K. A., Becerra-Flora, A., and Rivera-Bustamante, R. F. 1996. Detection and distribution of geminiviruses in Mexico and the Southern United States. *Phytopathology* 86:1186-1192.
- Van der Plank, J.E. 1963. *Plant diseases: Epidemics and control*. Academic Press. New York. 349 p.
- Velázquez, M.J.J., Rodríguez M.R. 1990. Transmisión y relaciones entre el chino del jitomate y su vector *Trialeurodes vaporariorum*. *Agrociencia* 1(3):69-88.
- Watson, M. A., and Roberts, F. M. 1939. A comparative study of the transmission of *Hyocymus virus* 3, potato Y and cucumber mosaic virus by the vector *Myzus persicae* (Sulz), *M. circumflexus* (Buckton), and *Macrosiphum geri* (Koch). *Proceedings of the Royal Society. London. B* 127:543-576.
- Zhang, W., Olson, N. H., Baker, T. S., Faulkner, L., Agbandje-McKenna, M., Boulton, M. I., Davies, J. W., y McKenna, R. 2001. Structure of the Maize streak virus geminate particle. *Virology* 279:471-477.

APÉNDICE

Cuadro A1. Protocolo de extracción de DNA total de planta (Método AP).

1. Tomar de 0.1 g de hoja de planta muestreada		
2. Colocarla en tubo eppendorf de 1.5 ml		
3. Congelar y moler en N ₂ líquido con pistilo		
4. <i>Agregar 750µl de solución AP y agitar vigorosamente, seguir moliendo</i>		
5. <i>Incubar 30 minutos a temperatura ambiente</i>		
6. <i>Centrifugar a 12 000 rpm durante 10 minutos</i>		
7. <i>Recuperar el sobrenadante a otro tubo</i>		
8. <i>Limpiar con un volumen igual de fenol:cloroformo:alcohol isoamílico (24:24:1)</i>		
9. <i>Centrifugar a 12 000 rpm por 10 minutos</i>		
10. <i>Recuperar el sobrenadante y pasar a otro tubo</i>		
11. <i>Agregar 0.2 volúmenes de acetato de amonio 10 M y un volumen de isopropanol</i>		
12. <i>Agitar</i>		
13. <i>Centrifugar a 12 000rpm por 10 minutos</i>		
14. <i>Eliminar el sobrenadante</i>		
15. <i>Lavar con 200µl de etanol 70% dos veces</i>		
16. <i>Centrifugar a 12 000rpm durante 5 minutos</i>		
17. <i>Dejar secar la pastilla</i>		
18. <i>Resuspender en 30 µl de agua estéril</i>		
Soluciones y reactivos	Materiales	Equipo
Solución AP: Urea 7 M NaCl 0.35 M EDTA 0.02 M Sarcosina 1%	Nitrógeno líquido o hielo	Microcentrífuga
Fenol:cloroformo:alcohol isoamílico (24:24:1)	Pistilos	Micropipetas
Isopropanol	Tubos 1.5 ml	
Etanol 70% en agua	Gradilla para tubos	

Cuadro A2. Electroforesis en gel de agarosa.

<ol style="list-style-type: none"> 1. <i>Para un gel al 1%, pesar 1 g de agarosa para 100 ml de TAE 1X</i> 2. <i>Colocar 2 minutos en el microondas o en mechero para disolver la agarosa</i> 3. <i>Dejar enfriar (sin solidificar) y agregar 1.5 µl de bromuro de etidio</i> 4. <i>Vertir el gel de agarosa en el portagel y colocar el peine para formar los pozos</i> 5. <i>Dejar solidificar a temperatura ambiente</i> 6. <i>Colocar el portagel en la cámara correspondiente y llenarla con TAE 1X hasta que cubra el gel</i> 7. <i>Cargar las muestras y el marcador de tamaño mezcladas con solución de carga</i> 8. <i>Conectar los electrodos a la fuente de poder y correr a 80-90 volts</i> 9. <i>Observar el gel en transiluminador con luz UV</i> 		
Soluciones y reactivos	Materiales	Equipo
Agarosa grado biología molecular TAE 1X Bromuro de etidio (10 mg/ml) Solución de carga 6X: Azul de bromofenol 0.1-0.25% Xilencianol 0.1-0.25% Glicerol 30%	Cámara de electroforesis (con portagel y peine) Fuente de poder Puntas para micropipetas	Micropipetas Transiluminador de luz UV Cámara fotográfica con filtro para luz UV Microondas, mechero y tripie o parrilla de agitación magnética (uso exclusivo para agarosa con bromuro)

Cuadro A3. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

<i>1. Preparar la siguiente mezcla en un tubo de PCR (0.2 ml) en hielo:</i>		
<i>16.5 µl de agua</i>		
<i>2.5 µl de solución para polimerasa 10X (incluida con la polimerasa)</i>		
<i>1.5 µl de MgCl₂</i>		
<i>2.0 µl de cada oligo iniciador (CP70-rev/YMAC-for)</i>		
<i>0.5 µl de mezcla de dNTPs</i>		
<i>0.5 µl de enzima Taq polimerasa</i>		
<i>2 µl de la muestra de DNA</i>		
<i>2. Correr la amplificación en termociclador con el programa:</i>		
<i>Desnaturalización 94°C 5 minutos</i>		
<i>Amplificación (35 ciclos para iniciadores)</i>		
<i>Desnaturalización 94°C, 1 minuto</i>		
<i>Alineamiento de iniciadores 55°C, 1 minuto</i>		
<i>Extensión por polimerasa 72°C, 1 minutos</i>		
<i>Extensión final 72°C, 5 minuto</i>		
<i>4 °C hasta analizar el resultado</i>		
<i>3. Analizar el resultado de la segunda amplificación por electroforesis en agarosa. La banda que identifica a una muestra como positiva es de 510 pb.</i>		
Soluciones y reactivos	Materiales	Equipo
DNAs a analizar	Tubos de 0.2 ml	Micropipetas
Oligonucleótidos 10 µM cada uno: CP70-for/YMAC-rev	Gradilla para tubos	Termociclador
Solución 10X para polimerasa Taq DNA polimerasa (5U/µl)	Puntas para micropipetas	Refrigerador (4 °C)
Mezcla dNTPs (10 mM cada uno)	Hielo	
MgCl ₂ 50 Mm		
Agua desionizada estéril		

Cuadro A4. Secuencias del ADN amplificado con los iniciadores CP70MAC-YMAC y PAL1v1978-PAR1c496 obtenidas de aislados de tomate en Cadereyta, Nuevo León.

>TomateC1.seq

```
CAGG TTCAGCATGGCCTTATCAATTTAGGCC CAGTACCAGTCCGGGGAGACT
GGTTAGAGGACCGACTCACCTTAGGGGTACCCGCCATTAAGCGCCATGGGG
CATCACGCTTAGGCATTATCACTATTTGCATGGTTGGACCACACATAACG
ACAAATTTATAGACCATAAAACAGCATGGTGACCAAGTTAGTAATAATTAG
ACTACCCAAACGTG TACTGATTGGTTAACTTTATCCAGGAAGGCCAACGCA
ATTTCTGATAGTGGGCCAGGTCCAAAAAATAATCGCGGCCATCCGGTAATAT
TATTGCGGATGGCCGAATTTGCCCTTGGTGTCCCCCAAGGGTTTTAGTATAA
ATGGGACACCAGGACACCAGCAACATAGAGTTTTAGAGAGAGCTCCCCTGG
TGTCTTGGCTCATATTTACAAAATGCCACGGAACCCTAATATATTTTCGTCTA
GCTGCAAAAATATTTTCTTAACATATCACAGTGTGATATCCCAAGATGAAGC
TATGGAATGCTTCAAATCTGCCATGGCCATCTCAAACCAAGTACAATACGA
TTCGCCGAAAGGACCCCAATGGATTTCCCCCTCCCCTGTCTCCTTCAAACCT
TCCGGATCAAACATTAAGAATTGTTGTTATTTCCCCCCCCCCCCCCCCCAA
AAGGGCCTGGCAATTTTCTTCAAACCCCCGGCGGCCAAAAAACCCCAACC
CCCCTTCAAAAAT
```

>TomateC8.seq

```
GTCGTAGAGCACGACCGATATCTCTCACGTGGGGAAGTCATGTGCATATCCG
ATGTCACACGTGGTAATGGTATCACCCACCGTGTGGTAAGCGGTTCTGTGT
TAAGTCTGTGTATATCCTCGGTAAGATATGGATGGACGAGAACATCAAGCTG
AAGAACCACACGAACAGTGAGCAGTTCTGGTTAGTGAGGGACCGTAGACCC
TATGGTACGCCTATGGATTTCCGCCAGGTGTTCAACATGTTTGACAATGAGC
CCAGCACTGCCACGGTCAAGAACGATCTACGCGATCGTTATCAGGTCATGCA
CAAGTTCTATGGCAAGGTGACAGGTGGACAGTATGCCAGCAACGAGCAGGC
TATAGTCAAGCGATTCTGGAGGGTCAACAACCATGTGGTCTACAATCATCAA
GAGGCTGGCAAGTATGAGAATCACACGGAGAACGCGTTGTTATTGTATATG
GCATGTACCATGCGTCAA
AGCTTGTA
```

Continuación Cuadro A4. Secuencias del ADN amplificado con los iniciadores CP70MAC-YMAC y PAL1v1978-PAR1c496 obtenidas de aislados de tomate en Cadereyta, Nuevo León.

>TomateC14.seq

```
GGTCGTAGACACGACCGATATCTCCCACGTGGGGAAGTCATGTGCATATCCGATGT
CACACGTGGTAATGGTATCACCCACCGTGTGGTAAGCGGTTCTGTGTTAAGTCTGT
GTATATCCTCGGTAAGATATGGATGGACGAGAACATCAAGCTGAAGAACCACACGA
ACAGTGTGATGTTCTGGTTAGTGAGGGACCGTAGACCCTATGGTACGCCTATGGATT
TCGGCCAGGTGTTCAACATGTTTGACAATGAGCCCAGCACTGCCACAGTGAAGAAC
GATCTACGCGATCGTTATCAGGTCATGCACAAGTTCTATGGCAAGGTGACAGGTGG
ACAGTATGCCAGCAACGAACACGCTATAGTCAAGCGATTCTGGAGGTCAACAACCA
TGTGGTCTACAATCACCAAGAGGCTGGCAAGTATGAGAATCACACGGAGAACGCGT
TGTTATTGTATATGGCATGTACCCATGCGTCAACTTGTA
```

>TomateC15.seq

```
CACTTGTCGCGTCGACACGACCGATATCTCCCACGTGGGGAGTCATGTGCATATCCG
ACGTCACACGTGTTAACGCTCTCACACACCTTGTTGATAAGCGGTTCTGTGTTAGCT
CTGTGTCTATCCTCGGCCATATCTGGATGCTTGAGCACATCGGGCTGAACGAACCAC
ACAAACCGTGAGTTGTTGTGGTTATTCAGGGACCGTTGACCCTCTGGTACACCTATG
GATTCGGCCAGTGTTCAACATGTTTGACAATGATCCCAGCCCTGCCACAGTCTAGA
ACGATCTCGCGATCCTTCTCCGGTCATGCACTCAGTTCTATGGAAATTTGCACAGGA
GACAGCTATACCTCCACAGAACACGCTTTCGTCAACCGATTCTGGAACCTCAACCAC
CTTGACTCTACATCACCAATAGACTTGGCCAGCATGAGATCACCGGAGCACCTC
CTTGTTATAGTATACCGTAATGGTACCTGCTCAAAAATTGTATTWTTTCTCTCCCTCC
CCCTCCTCCTCTCCCTCTCCCCAACCCCTCCACTTCTCCTTCCCCCCCCCTTCCCTCCAC
TACTCTACTCTTTTATTTTTTCTTATGCCCAATCTAAAATTAATAATTACATTCAA
CAATCTCTCCCCCATAAATAACCAACCATTAACCAAAATAAATAAACCCAAATTTCT
CTACTACTCAATTCTACCCACCTTTCTCCTTTTAGCTATCACTCTCCCCCTAT
ACCATATAGTCGGCCCTCAAAAAAG
```

>TomateC16.seq

```
GGTCGTAGAGCACGACACGATATCTCCCACGTGGGGAAGTCATGTGCATATCCGAT
GTCACACGTGGTAATGGTATCACCCACCGTGTGGTAAGCGGTTCTGTGTTAGTCTG
TGTATATCCTCGGTAAGATATGGATGGACGAGAACATCAAGCTGAAGAACCACACG
AACAGTGTGATGTTCTGGTTAGTGAGGGACCGTAGACCCTATGGTACGCCTATGGAT
TTCGGCCAGGTGTTCAACATGTTTGACAATGAGCCCAGCACTGCCACAGTGAAGAA
CGATCTACGCGATCGTTATCAGGTCATGCACAAGTTCTATGGCAAGGTGACAGGTG
GACAGTATGCCAGCAACGAGCAGGCTATAGTCAAGCGATTCTGGAGGGTCAACAAC
CATGTGGTCTACAATCACCAAGAGGCTGGCAAGTATGAGAATCACACGGAGAACGC
GTTGTTATTGTATATGGCATGTACCCATGCGTCAAAGCTTGTA
```


Cuadro A5. Análisis de varianza para las variables enfermedad y tiempo en tomate.
Rancho “El Escape”; Municipio de Cadereyta; NL. Ciclo P-V 2007.

	Fuente	DF	SC	CM	F-Valor	Pr > F	R²
Logístico	Modelo	1	50.19948	50.19948	50.70	0.0008	0.9102
	Error	5	4.95018	0.99004			
	Total	6	55.14966				
	corregido						
	Fuente	DF	SC	CM	F-Valor	Pr > F	R²
Gompertz	Modelo	1	31.06713	31.06713	47.01	0.0010	0.9039
	Error	5	3.30455	0.66091			
	Total	6	34.37168				
	corregido						
	Fuente	DF	SC	CM	F-Valor	Pr > F	R²
Mono molecular	Modelo	1	20.67471	20.67471	39.97	0.0015	0.8888
	Error	5	0.51720	0.51720			
	Total	6	23.26069				
	corregido						

SC=suma de cuadrados; CM= cuadrados medios; R²= coeficiente de determinación.

Cuadro A6. Análisis de varianza para las variables de enfermedad y tiempo en tomate.
Rancho “San Lusi”; Municipio de Montemorleos; NL. Ciclo P-V 2007.

	Fuente	DF	SC	CM	F-Valor	Pr > F	R²
Logístico	Modelo	1	18.64349	18.64349	283.30	<.0001	0.9827
	Error	5	0.32904	0.06581			
	Total	6	18.97254				
	corregido						
	Fuente	DF	SC	CM	F-Valor	Pr > F	R²
Gompertz	Modelo	1	9.85282	9.85282	176.94	<.0001	0.9725
	Error	5	0.27843	0.05569			
	Total	6	10.13125				
	corregido						
	Fuente	DF	SC	CM	F-Valor	Pr > F	R²
Mono molecular	Modelo	1	5.37647	5.37647	56.21	0.0007	0.9183
	Error	5	0.47822	0.09564			
	Total	6	5.85469				
	corregido						

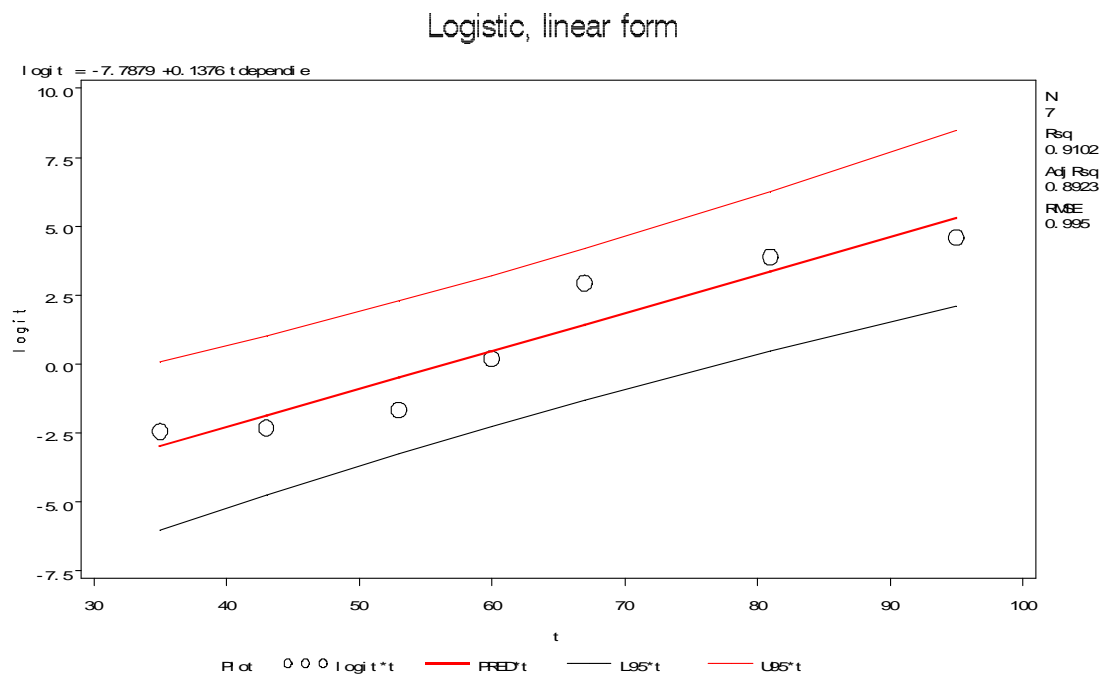
SC=suma de cuadrados; CM= cuadrados medios; R²= coeficiente de determinación.

Cuadro A7. SAS: nonlinear logistic fit

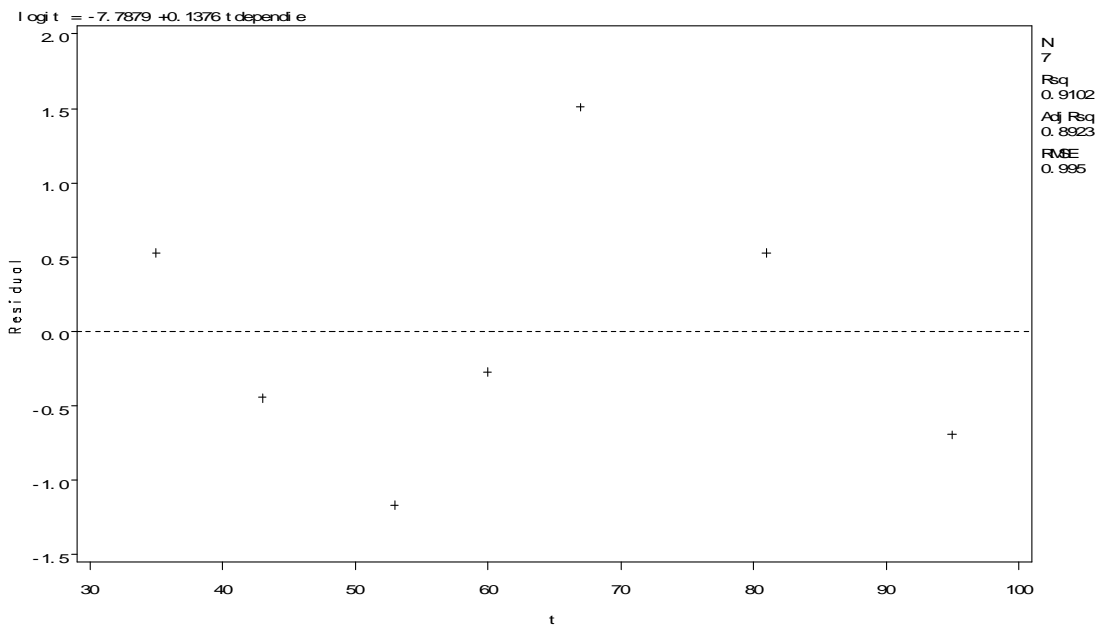
```

data a; input t y ; logit = log(y/(1-y));
datalines;
44      0.08
48      0.21
59      0.34
67      0.50
77      0.68
84      0.84
96      0.94
;
proc reg data=a; title 'Logistic, linear form';
model logit = t; plot logit*t / pred; plot r.*t;
proc nlin data=a; title 'Logistic, nonlinear form'; parameters y0star=-5 r=0.10 ; bounds
r>0; model y = 1/(1 + exp(-(y0star + r*t))); output out=outLL r=r p=p;
proc gplot data=outLL; plot r*t; plot y*t p*t/ overlay; SYMBOL1 W=1 h=2 c=black
V=circle I=none l=3; SYMBOL2 W=2 H=2 c=red V=none I=join l=1;
run;

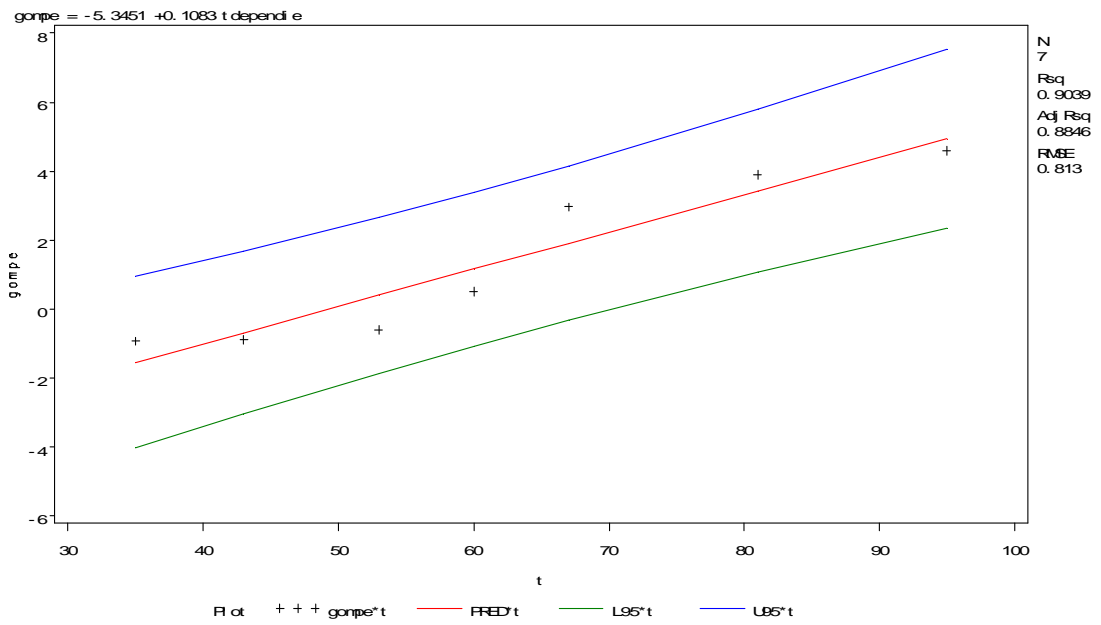
```

Figura 1A. Regresión lineal y distribución de los residual de los Modelos Logístico, Gompertz y Monomolecular. Rancho “El Escape”; Municipio de Cadereyta; NL. Ciclo P-V 2007.

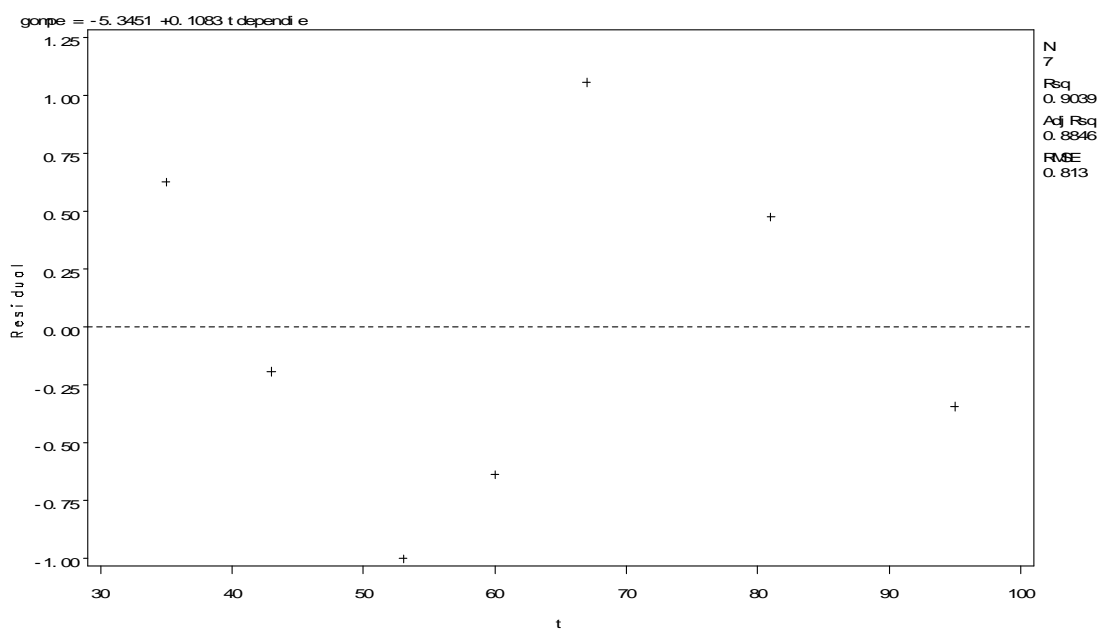
Logistic, linear form



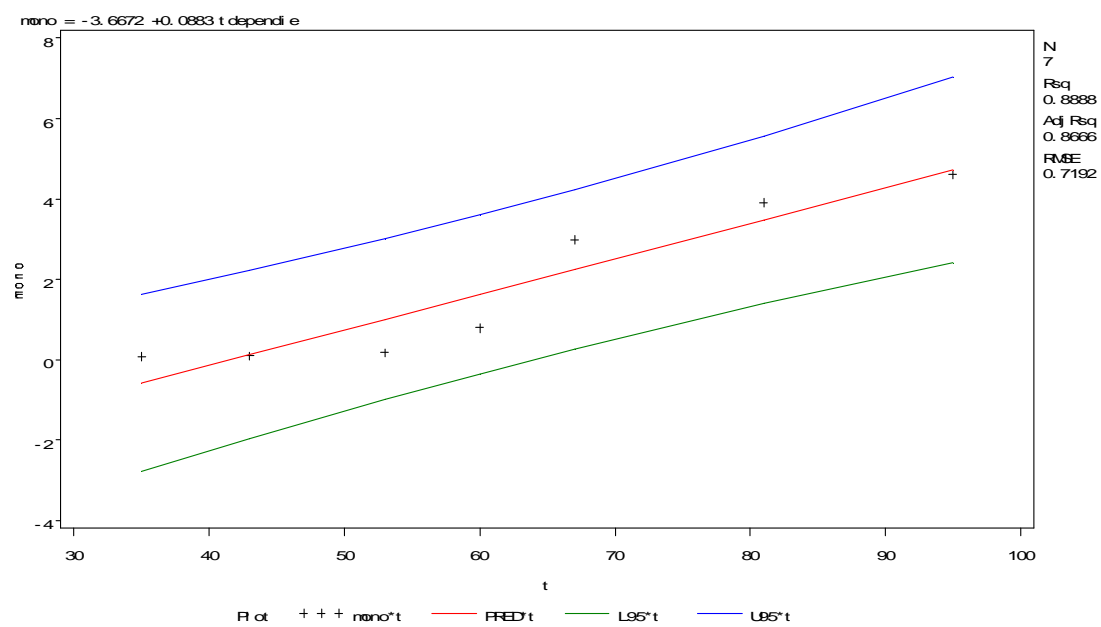
gompertz, linear form



gompertz, linear form



monomolecular, linear form



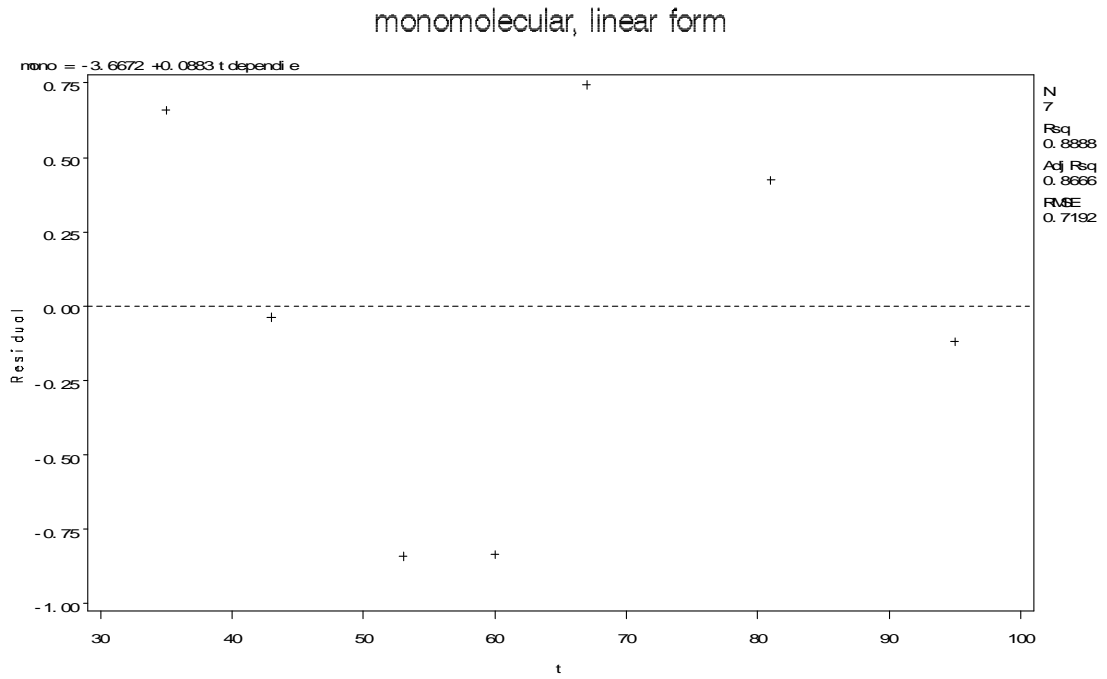
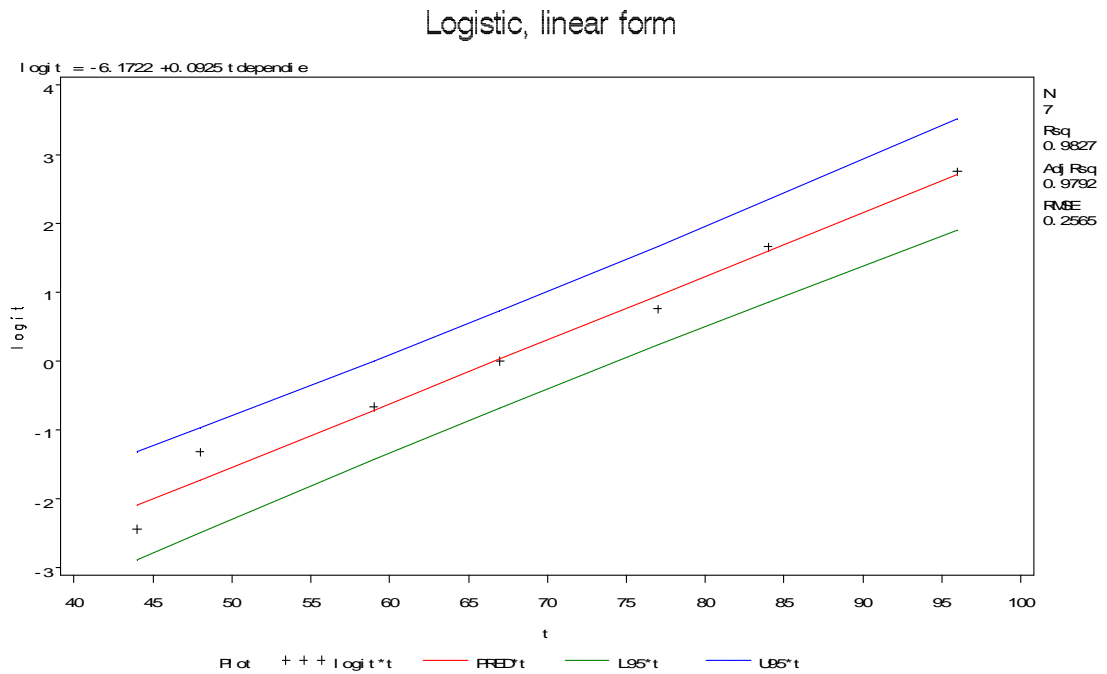
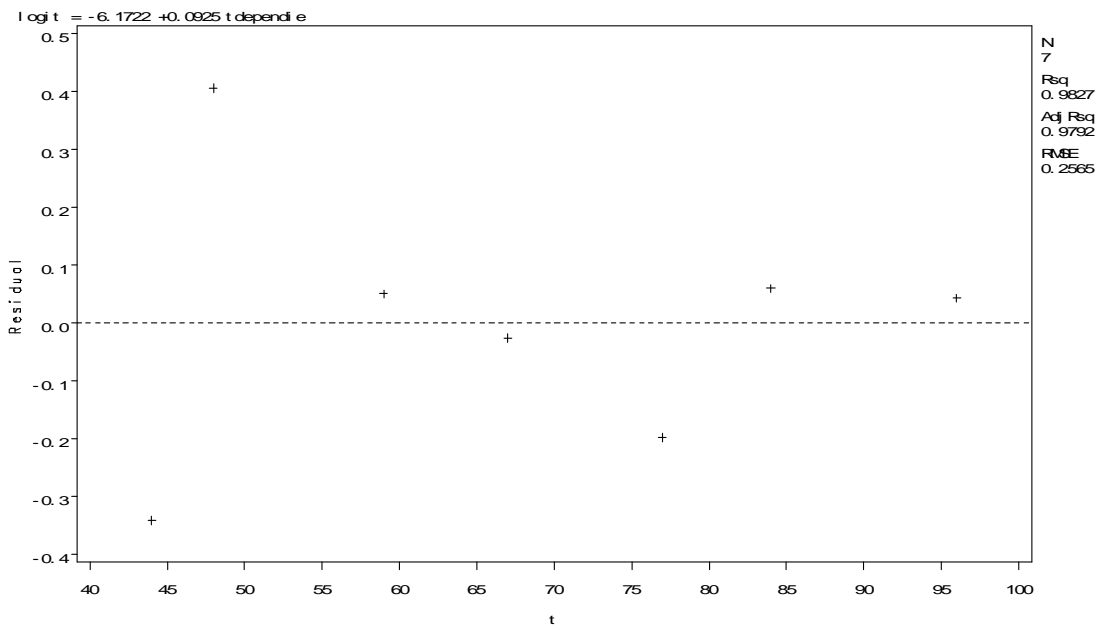


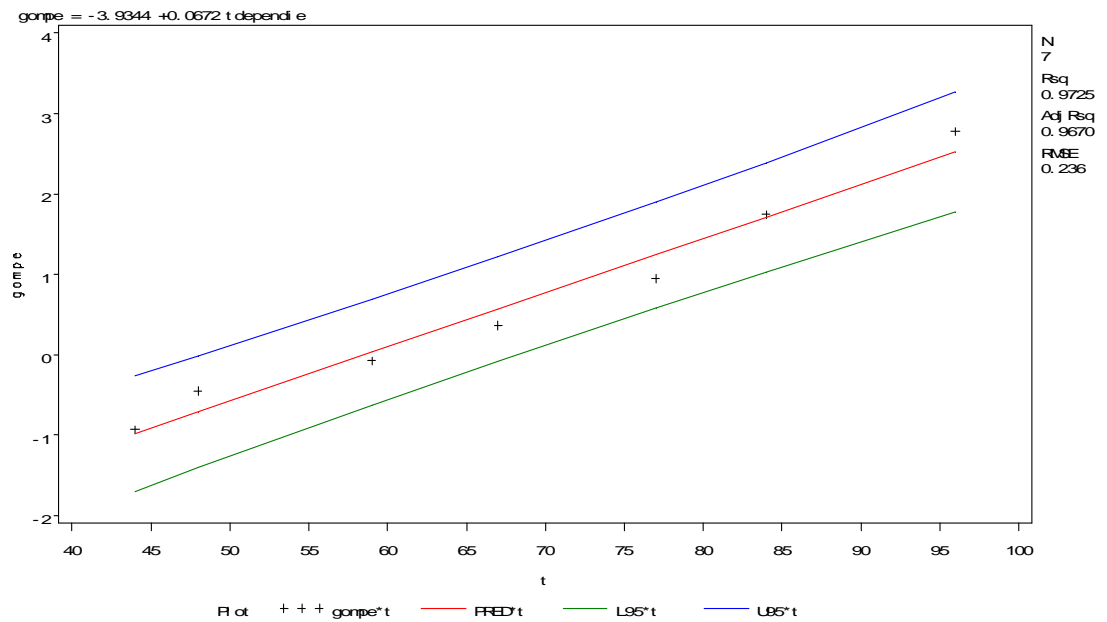
Figura 2A. Análisis temporal de la epidemia (Modelos Logístico, Gompertz y Monomolecular). Rancho “San Luis”; Municipio de Montemorelos; NL. Ciclo P-V 2007.



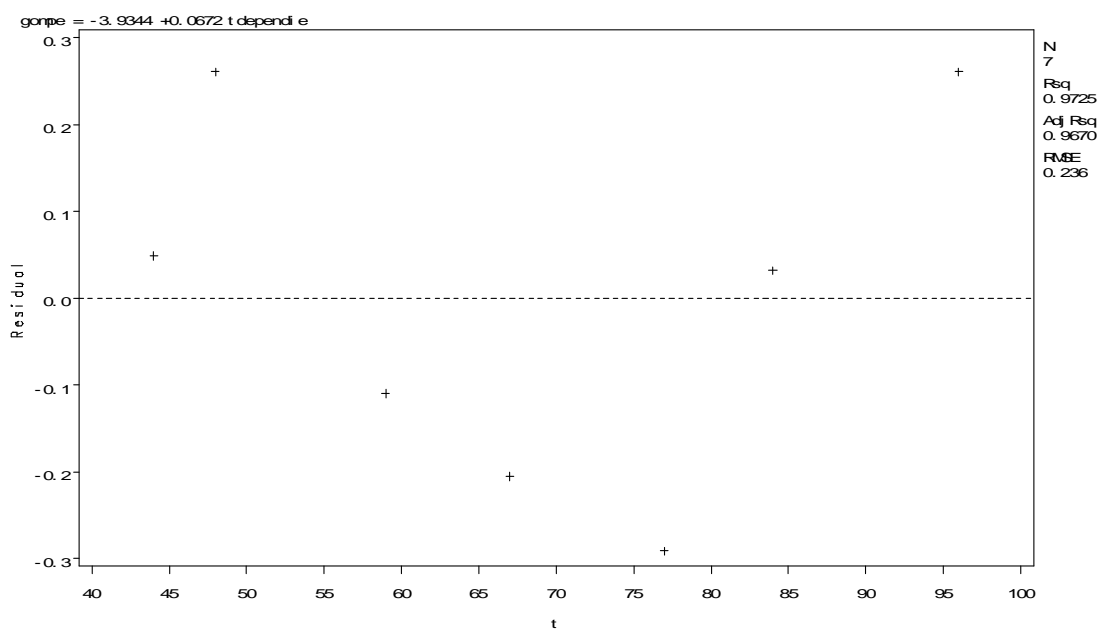
Logistic, linear form



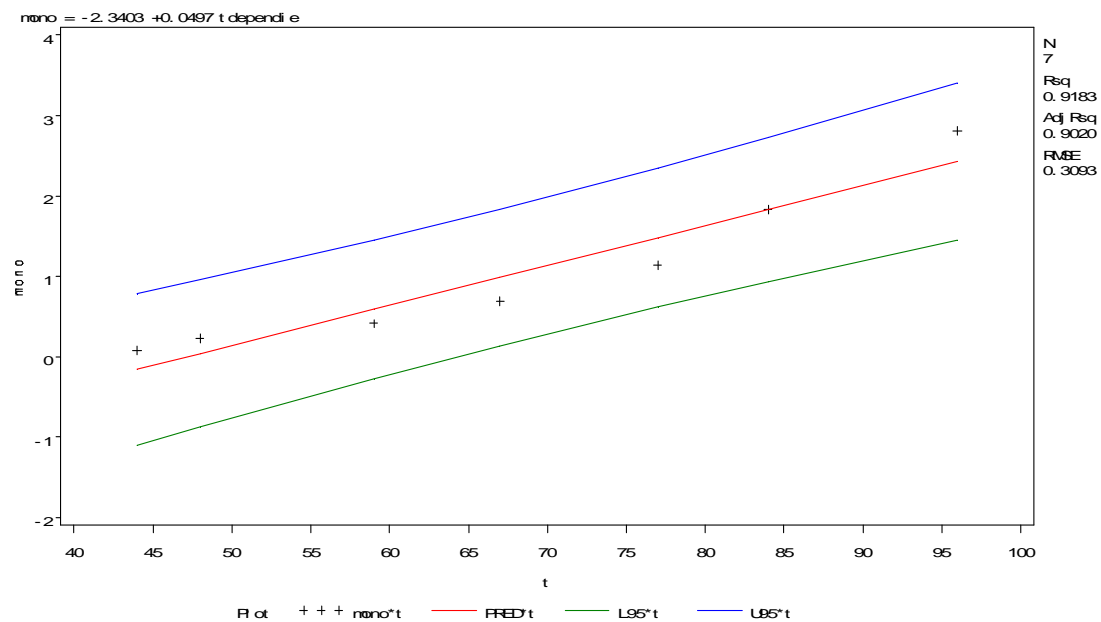
gompertz, linear form



gompertz, linear form



monomolecular, linear form



monomolecular, linear form

