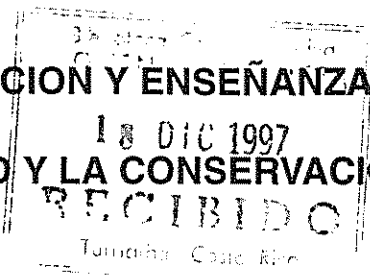


CENTRO AGRONOMICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA
PROGRAMA DE ENSEÑANZA PARA EL DESARROLLO Y LA CONSERVACION
ESCUELA DE POSTGRADO



**MOVIMIENTO DIARIO DE Bemisia tabaci EN PARCELAS DE TOMATE,
DISEMINACION LOCAL DEL MOSAICO AMARILLO Y FUENTES DE INOCULO DEL
ToYMV - CR EN GUAYABO, COSTA RICA**

POR

JUAN ANTONIO JOVEL CASTILLO

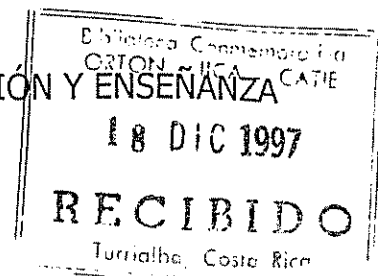


Turrialba, Costa Rica
1997

CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA

PROGRAMA DE ENSEÑANZA

ÁREA DE POSTGRADO



Movimiento diario de *Bemisia tabaci* en parcelas de tomate, diseminación local del mosaico amarillo y fuentes de inóculo del ToYMV-CR en Guayabo, Costa Rica

POR

JUAN ANTONIO JÓVEL CASTILLO

CATIE

Turrialba, Costa Rica
1997

Esta tesis ha sido aceptada en su presente forma, por la Jefatura del Area de Postgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales del CATIE y aprobada por el Comité Asesor del estudiante como requisito parcial para optar al grado de:

MAGISTER SCIENTAE

FIRMANTES:



Ph. D. Lako Hilje
Profesor Consejero



Ph. D. Christoph Kleinn
Miembro Comité Asesor



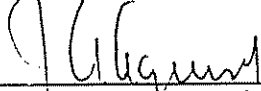
Ph. D. Pilar Ramírez
Miembro Comité Asesor



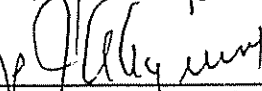
Ph. D. Bernal Valverde
Miembro Comité Asesor



Ph. D. Víctor Cartín
Miembro Comité Asesor



Ph. D. Juan Antonio Aguirre
Jefe, Area de Postgrado



Ph. D. Markku Kanninen
Director, Programa de Enseñanza



Juan Antonio Jovel Castillo
Candidato

DEDICATORIA

A Esmeralda y Kathya

AGRADECIMIENTO

Deseo expresar mi sincero agradecimiento a las siguientes personas e instituciones:

- Al Servicio Alemán de Intercambio Académico (DAAD), por el apoyo financiero brindado para la realización de mis estudios de maestría.
- De forma especial a los doctores Luko Hilje, Christoph Kleinn y Pilar Ramírez, quienes guiaron este trabajo paso a paso, hasta su feliz culminación.
- A los doctores Bernal Valverde y Víctor Cartín por sus acertadas observaciones al presente documento.
- A mis grandes compañeros y amigos M Sc Douglas Cubillo y su asistente de investigación Guido Sanabria, por su gran apoyo y asesoría en los aspectos agronómicos de este trabajo y por todas las desveladas que pasamos juntos en aras de este estudio.
- De forma muy especial a mi amigo Alexis Serrano, por toda la enseñanza que me brindó en el campo de la Biología Molecular, sin la cual este trabajo no hubiese sido posible. También a Omar Collado, James Karkaschian, Kenneth Madriz y Roy Rojas, del Centro de Biología Celular y Molecular (CIBCM) de la UCR, por su gran apoyo.
- A los siguientes funcionarios de CATIE por su apoyo brindado: Dr. Francisco Jiménez, Arnoldo Merayo, Israel Garita, Ghisselle Alvarado, Miguel Sanabria, Sergio Velázquez, y a Johnny Pérez, por sus valiosas contribuciones en los aspectos estadísticos de este estudio.
- A todo el personal de Postgrado, por su gran eficiencia y gentileza, especialmente a Rosemary Garro, Lucy Agüero, Eduardo Molina y Tomás Dittel.
- A todo el personal de la Biblioteca Conmemorativa ORTON, quienes a través de su desempeño dan una excelente imagen de la institución que representan; y entre ellos, de forma muy especial a Addy Mora, Kattia Castillo, Lisseth Brenes, Rigoberto Aguilar, Javier Brenes y, por supuesto, a mi gran amigo Juan Rojas.
- Al Sr. Víctor Céspedes y su familia por su gran amistad y por haber colaborado con el préstamo de los terrenos en los cuales se realizaron los estudios de campo.

INDICE

DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTOS.....	IV
INDICE.....	V
RESUMEN	VII
SUMMARY	VIII
LISTA DE FIGURAS.....	IX
LISTA DE CUADROS.....	X
LISTA DE ANEXOS	XI
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS	2
2.1 GENERAL.....	2
2.2 ESPECÍFICOS.....	2
3. HIPÓTESIS.....	3
4. REVISIÓN DE LITERATURA	3
4.1 IMPORTANCIA DE <i>B. TABACI</i> COMO PLAGA AGRÍCOLA	3
4.2 BIOTIPOS.....	5
4.3 HOSPEDANTES	7
4.4 GEMINIVIRUS.....	9
4.5 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS	12
4.6 ACTIVIDAD Y DISTRIBUCIÓN ESPACIAL DE <i>B. TABACI</i>	13
4.7 MÉTODOS Y TÉCNICAS DE MUESTREO DE <i>B. TABACI</i>	16
4.8 ANÁLISIS ESPACIAL Y TEMPORAL DE EPIDEMIAS VIRALES.....	18
5. MATERIALES Y MÉTODOS	21
5.1 MOVIMIENTOS DIARIOS DEL VECTOR.....	21
5.1.1 Parcelas	21
5.2.1 Inmigración y movimientos diarios entre plantas.....	22
5.2 PATRÓN DE DISEMINACIÓN LOCAL DEL MOSAICO AMARILLO DEL TOMATE	23
5.2.1 Parcelas	23

5.2.2 Patrón de diseminación.....	24
5.2 FUENTES DE INÓCULO PRIMARIO DEL TOYMV-CR.....	26
5.2.1 Muestreo de plantas.....	26
5.2.1 Importancia relativa de las malezas.....	28
5.2.3 Inoculación de plantas.....	28
5.2.3 Detección del ToYMV-CR.....	29
7. RESULTADOS.....	30
7.1 MOVIMIENTOS DIARIOS.....	30
7.2 PATRÓN DE DISEMINACIÓN LOCAL DEL MOSAICO AMARILLO DEL TOMATE.....	34
7.2.1 Análisis de regresión para todos los puntos en el tiempo.....	34
7.2.3 Análisis de regresión para cada punto en el tiempo.....	37
7.3 FUENTES DE INÓCULO DEL TOYMV-CR.....	44
8. DISCUSIÓN.....	47
10. CONCLUSIONES.....	60
10. RECOMENDACIONES.....	61
11. REFERENCIAS.....	62
12. ANEXOS.....	71

JOVEL, J. A. 1997. Movimiento diario de *Bemisia tabaci* en parcelas de tomate, diseminación local del mosaico amarillo y fuentes de inóculo del ToYMV-CR en Guayabo, Costa Rica. Tesis Mag. Sci. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 93 p.

Palabras claves: *Bemisia tabaci*, geminivirus, movimiento diario, fuentes de inóculo, diseminación local.

RESUMEN

Se estudiaron varios aspectos bioecológicos del complejo *B. tabaci*-ToYMV-CR, importantes en la epidemiología de la enfermedad del mosaico amarillo del tomate, en campos de agricultores. Se determinaron los movimientos del insecto hacia la parcela y dentro de ésta, así como la distribución espacial de la enfermedad. Mediante un programa para microcomputadoras (EPIDEMIC) se determinó la influencia de la distancia y el número de plantas infectadas alrededor de una planta sana, sobre la probabilidad de una futura infección, así como el efecto del ángulo en que una planta sana se ubica con respecto a otra infectada. Además, se realizó una recolección de malezas asociadas con plantaciones de tomate y plantas cultivadas hospedantes de *B. tabaci*, para determinar si el ToYMV-CR tiene hospedantes alternos en la zona de Guayabo de Turrialba; dicha recolección abarcó 21 campos y se realizó durante 10 meses, con una frecuencia quincenal. Los resultados indican que los movimientos de *B. tabaci* son continuos durante el día, y son de corta distancia dentro de la parcela. No se encontraron hospedantes alternos (silvestres o cultivados) para el ToYMV-CR. La diseminación de la enfermedad dentro de la parcela dependió de la distancia a plantas ya infectadas y ocurrió principalmente dentro de las hileras, en ambas direcciones, como producto de los movimientos cortos del vector.

JOVEL, J. 1997. Daily movement of *Bemisia tabaci* in tomato plots, local dissemination of yellow mosaic disease and sources of inoculum of the ToYMV-CR in Guayabo, Costa Rica. Mag. Sci. Thesis. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 93 p.

Key words: *Bemisia tabaci*, geminivirus, daily movements, sources of inoculum, local dissemination.

SUMMARY

Several bioecological aspects of the *B. tabaci*-ToYMV-CR complex, related to the epidemiology of the tomato yellow mosaic disease, were studied in farmer's fields, in Costa Rica. Daily movements of the insect towards and within tomato plots were determined, as well as the spatial distribution of the disease. The influence of the distance and the number of infected plants around a healthy tomato plant on the likelihood of its infection, as well as the angle at which a healthy plant was located in relation to a diseased one, were determined through a special computer program (EPIDEMIC). In addition, both weeds and other crops associated with commercial tomato fields in the area were collected to determine if they were alternative hosts of ToYMV-CR; sampling was conducted biweekly during 10 months, and included 21 fields. Results show that movements of *B. tabaci* adults were continuous throughout the day, and that short-range movements within the plots were predominant. No alternative hosts were found (either wild or cultivated) for the ToYMV-CR. Dissemination of the disease within the plot depended on the distance from already infected plants and was more prevalent within crop rows, in both directions, as a result of the short-range movements of the vector.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Distribución de puntos de muestreo de malezas, realizado entre noviembre de 1996 y agosto de 1997. 27
- Figura 2.** Total de adultos de *B. tabaci* inmigrantes o repoblando las plantas muestreadas, para las parcelas I(A), II(B), III(C). 33
- Figura 3.** Porcentaje de plantas infectadas para cada punto en el tiempo, para las parcelas I y II (A), III (B) y de coberturas al suelo (C). 36
- Figura 4.** Dispersión del estado sanitario de las plantas en *tn* (sana = 0 o infectada = 1), en función de la distancia de estas a plantas infectadas en *tn-1*, para las parcelas I(A), II(B), III(C), testigo 1 (D), testigo 2 (E), cinquillo (F), plástico verde (G) y plástico plateado (H). 38
- Figura 5.** Valores de tasa de cambio porcentual en el cociente de probabilidad de ocurrencia (CPO) del mosaico amarillo del tomate y los respectivos valores de significancia de la regresión para cada uno de los puntos en el tiempo, para la variable distancia, para las parcelas I(A), II(B), III(C), testigo 1 (D), testigo 2 (E), cinquillo (F), plástico verde (G) y plástico plateado (H). 40
- Figura 6.** Valores de tasa de cambio porcentual en el cociente de probabilidad de ocurrencia (CPO) del mosaico amarillo del tomate y los respectivos valores de significancia de la regresión para cada uno de los puntos en el tiempo, para la variable círculo, para las parcelas I(A), II(B), III(C), testigo 1 (D), testigo 2 (E), cinquillo (F), plástico verde (G) y plástico plateado (H). 42
- Figura 7.** Frecuencias de ocurrencia de los diferentes ángulos, relativos a la dirección del eje Y, formados entre cada planta nuevamente infectada y la planta más próxima ya infectada en cualquier punto anterior en el tiempo, para las parcelas I(A), II(B), III(C), testigo 1 (D), testigo 2 (E), cinquillo (F), plástico verde (G) y plástico plateado (H). 43
- Figura 8.** Abundancia relativa porcentual de las principales especies de malezas encontradas en la zona de estudio. 46
- Figura 9.** Representación teórica de los ángulos prevalentes en la distribución circular. 57

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Análisis de varianza para las variables número de adultos inmigrantes y número de adultos repoblando las plantas de tomate muestreadas, para las diferentes fechas de muestreo.	30
Cuadro 2. Coeficientes de correlación (Pearson) para las variables climáticas registradas, el total de adultos inmigrantes y el total de adultos repoblando las plantas muestreadas.	31
Cuadro 3. Coeficientes de correlación (Spearman) entre la ubicación de trampas que registraron mayores capturas y la dirección del viento.	32
Cuadro 4. Coeficientes de correlación (Pearson) entre el total de adultos repoblando las plantas muestreadas y el total de adultos inmigrantes.	32
Cuadro 5. Resultados del análisis de regresión logística para la distancia a la planta más próxima ya infectada en cualquier punto anterior en el tiempo y el número de plantas infectadas en un círculo de 0,99 m de radio.	34
Cuadro 6. Especies de posibles plantas hospedantes del ToYMV-CR recolectadas, y su respectiva señal de detección.	44
Cuadro 7. Especies de plantas inoculadas con geminivirus en el invernadero, y su respectiva señal de detección.	45

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Diagrama de las parcelas experimentales I, II y III.	72
Anexo 2. Disposición de parcelas en experimento de coberturas, Guayabo, Turrialba. Mayo-junio, 1996.	73
Anexo 3. Distribución espacial de plantas sanas (+), infectadas (●) y faltantes (◦) para los siguientes puntos en el tiempo 1(A), 2(B), 3(C), 4(D), 5(E) y 6(F), en parcela I. Guayabo, Turrialba.	74
Anexo 4. Distribución espacial de plantas sanas (+), infectadas (●) y faltantes (◦) para los siguientes puntos en el tiempo 1(A), 2(B), 3(C), 4(D), 5(E) y 6(F), en parcela II. Guayabo, Turrialba.	75
Anexo 5. Distribución espacial de plantas sanas (+), infectadas (●) y faltantes (◦) para los siguientes puntos en el tiempo 1(A), 2(B), 3(C), 4(D) y 5(E) en parcela III. Guayabo, Turrialba.	76
Anexo 6. Distribución espacial de plantas sanas (+) e infectadas (●) para los siguientes puntos en el tiempo 1(A), 2(B), 3(C), 4(D), 5(E) y 6(F), en parcela testigo 1. Guayabo, Turrialba.	77
Anexo 7. Distribución espacial de plantas sanas (+) e infectadas (●) para los siguientes puntos en el tiempo 1(A), 2(B), 3(C), 4(D) y 5(E) en parcela testigo 2. Guayabo, Turrialba.	78
Anexo 8. Distribución espacial de plantas sanas (+) e infectadas (●) para los siguientes puntos en el tiempo 1(A), 2(B), 3(C), 4(D), 5(E) y 6(F), en parcela cinquillo (CQ). Guayabo, Turrialba.	79
Anexo 9. Distribución espacial de plantas sanas (+) e infectadas (●) para los siguientes puntos en el tiempo 1(A), 2(B), 3(C), 4(D), 5(E) y 6(F), en parcela plástico verde (PV). Guayabo, Turrialba.	80
Anexo 10. Distribución espacial de plantas sanas (+), infectadas (●) y faltantes (◦) para los siguientes puntos en el tiempo 2(A), 3(B), 4(C), 5(D), 6(E) y 7(F), en parcela plástico plateado (PP). Guayabo, Turrialba.	81
Anexo 11. Código del programa EPIDEMIC y un archivo LEAME.TXT, con instrucciones generales acerca de cómo usar dicho programa (ver diskette en contracarátula)	82

Anexo 12. Técnicas utilizadas por el cálculo de los datos requeridos para la implementación de la regresión logística.	83
Anexo 13. Protocolos de trabajo para la detección de geminivirus, mediante la hibridación radioactiva y no radioactiva de ácidos nucleicos.	89
Anexo 14. Análisis de varianza para el total de adultos inmigrantes, para todas las fechas de muestreo. Parcela I, II y III.	93
Anexo 15. Análisis de varianza para el total de adultos repoblando las plantas de tomate, para todas las fechas de muestreo. Parcela I, II y III.	93

1. INTRODUCCIÓN

En el último decenio, *Bemisia tabaci* se ha convertido en una plaga primaria en países de todos los continentes, especialmente como vector de geminivirus (Gerling y Mayer 1996). En Costa Rica ataca varios cultivos, dentro de los que sobresale el tomate (*Lycopersicon esculentum*), que es severamente afectado por dichos virus (Hilje *et al.* 1993). La complejidad del problema de *B. tabaci* se fundamenta en varios factores, como su gran plasticidad genética, amplio ámbito de hospedantes, capacidad de alcanzar poblaciones muy altas, y su asociación con varios tipos de virus, entre los que destacan los geminivirus (Gerling y Mayer 1996).

Una evidencia de la plasticidad genética es la existencia de varias razas o biotipos que varían entre sí en varios aspectos biológicos, así como en su ámbito de hospedantes (Brown 1990, 1994, Brown y Bird 1992). Siete de ellos se encuentran en América Central y el Caribe (Brown *et al.* 1995a, b), incluyendo al biotipo B, considerado ahora como *Bemisia argentifolii* (Bellows *et al.* 1994). En Costa Rica, el biotipo que ataca al tomate es el C (Brown *et al.* 1995b), cuya biología y ecología ha sido poco estudiada (Hilje *et al.* 1993). Dicho biotipo tiene al menos 46 hospedantes, tanto cultivados como silvestres, y no se reproduce en el tomate (Hilje *et al.* 1993); se asocia con el geminivirus ToYMV-CR, que causa la enfermedad del mosaico amarillo del tomate (Dr. Douglas P. Maxwell 1997, University of Wisconsin-Madison, com. pers.).

Dentro de un enfoque de sistemas de cultivos, es importante conocer las relaciones entre los cultivos sembrados en una misma finca o fincas vecinas. En Costa Rica, en las áreas productoras de hortalizas por lo general hay muchas fincas pequeñas y medianas, que configuran "mosaicos" de producción donde comúnmente se siembran cultivos como frijol, vainica, tomate, chile y algunas cucurbitáceas, con gran variedad de esquemas espaciales y temporales (Hilje 1996). Todos estos cultivos son hospedantes del biotipo C, pero destaca el chile dulce (*Capsicum annuum*), en el que el insecto se reproduce masivamente (Hilje *et al.* 1993). Además, bajo gran presión de inóculo, el ToYMV-CR se puede reproducir en la vainica (Dra. Pilar Ramírez 1996, CIBCM, Universidad de Costa Rica, com. pers.).

Asimismo, es necesario conocer si dicho virus tiene hospedantes silvestres, los cuales han sido explorados en forma preliminar, hasta ahora sin éxito (Rivas *et al.* 1995).

Además de determinar los posibles hospedantes del ToYMV-CR, es importante conocer los movimientos diarios y la distribución de los adultos del biotipo C dentro de las parcelas, sobre lo cual los datos existentes son aún preliminares (Arias y Hilje 1993), pues esta información permitiría entender mejor la epidemiología del mosaico amarillo del tomate, así como valorar mejor la funcionalidad de ciertas medidas preventivas, como coberturas al suelo, cultivos trampa y sustancias repelentes, actualmente sugeridas para el manejo del complejo *B. tabaci*-geminivirus en tomate. Asimismo, el estudio del patrón de diseminación de la enfermedad a través del tiempo, proporciona información acerca de la ubicación de las fuentes de inóculo de los patógenos (Madden *et al.* 1982), lo cual permitirá definir y sugerir medidas de manejo pertinentes, dependiendo de si la fuente principal son los hospedantes silvestres en las cercanías de las parcelas de tomate, otros cultivos, campos viejos de tomate, o bien las plantas inicialmente infectadas dentro de la misma parcela (Polston *et al.* 1996).

2. OBJETIVOS

2.1 GENERAL

- Estudiar aspectos bioecológicos en la relación *B. tabaci*-ToYMV importantes en la epidemiología de la enfermedad del mosaico amarillo del tomate, en Costa Rica.

2.2 ESPECIFICOS

- Estudiar los patrones de movimiento de *B. tabaci* en parcelas de tomate, y su relación con factores climáticos (viento, temperatura y humedad relativa).
- Determinar el patrón de diseminación local de la enfermedad del mosaico amarillo en parcelas de tomate.

- Investigar si el geminivirus causante del mosaico amarillo del tomate presente en Costa Rica (ToYMV-CR) tiene hospedantes alternos, cultivados o silvestres, en la zona de Guayabo de Turrialba.

3. HIPÓTESIS

- Los movimientos de adultos de *B. tabaci* en parcelas de tomate no dependen del viento, la temperatura y la humedad relativa.
- El ingreso de adultos de *B. tabaci* en parcelas de tomate, así como los movimientos entre plantas, no son continuos durante el día.
- El patrón de aparición de plantas de tomate nuevamente infectadas con el geminivirus ToYMV-CR es independiente de la presencia de plantas infectadas en puntos anteriores en el tiempo.
- El geminivirus del mosaico amarillo del tomate (ToYMV-CR) no tiene hospedantes alternos, silvestres o cultivados, en las cercanías de las parcelas de tomate.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 IMPORTANCIA DE *B. TABACI* COMO PLAGA AGRÍCOLA

Debido a su papel como plaga directa y vector de virus en diferentes plantas cultivadas, *B. tabaci*, es una plaga que ha causado gran preocupación en el plano mundial, por lo que ha sido objeto de múltiples estudios. Evidencias de esto son la publicación de dos libros (Gerling 1990, Gerling y Mayer 1996), varias revisiones comprensivas (Cock 1986, Ohnesorge y Gerling 1986, Byrne y Bellows 1991) y más de 3000 artículos científicos.

El daño directo a los cultivos ocurre cuando *B. tabaci* se alimenta del floema de las plantas, succiona la savia y reduce su vigor (Norman *et al.* 1996). Las ninfas y adultos producen daños directos e indirectos a los cultivos (Byrne y Bellows 1991). El primer tipo de daño lo causan al succionar la savia, lo cual reduce la calidad de frutos. El segundo, principalmente causado por las ninfas, es la alteración de procesos fisiológicos, como la reducción de la tasa neta de fotosíntesis y la transpiración; en consecuencia, también hay reducción del contenido de clorofila y finalmente del peso de la hoja (Buntin *et al.* 1993). Además hay afección causada por la excreción de exudados azucarados, que inducen el establecimiento y proliferación de enfermedades fungosas, comúnmente denominadas fumaginas y que son provocadas por *Capnodium* spp. lo cual interfiere con la fotosíntesis (Byrne y Bellows 1991). Se ha documentado que las ninfas del biotipo B causan los síndromes de la hoja plateada en algunas cucurbitáceas (Yokomi *et al.* 1990), de la maduración irregular en frutos de tomate (Brown 1993), del palidecimiento del tallo de la brócoli (Judith Brown 1997, University of Arizona, com. pers.) y del amarillamiento del follaje de la lechuga (Costa *et al.* 1993).

El biotipo B es más agresivo para alimentarse que otros biotipos y produce más exudados azucarados (De Barro 1995). Se presume que la principal razón para el incremento de la importancia económica de *B. tabaci* es la introducción de este biotipo, el cual también ha sido asociado con resistencia a altos niveles de insecticidas (Norman *et al.* 1996)

La mayor influencia nociva de *B. tabaci* está referida a su capacidad de transmisión de enfermedades virales, ocasionadas principalmente por geminivirus (Lastra 1993). Aunque el complejo *B. tabaci*-geminivirus afecta muchos cultivos, las epidemias más serias han sido observadas en frijol y tomate (Brown 1994). En América Central, en el cultivo de tomate, se han detectado cuatro geminivirus transmitidos por *B. tabaci*: el ToGVGA-I, ToGVGA-II, ToGVGA-III (denominados tentativamente geminivirus del tomate de Guatemala, razas I, II, III) y el ToYMV-CR (virus del mosaico amarillo del tomate) el cual se ha encontrado únicamente en Costa Rica (Dr. Douglas P. Maxwell 1996, University of Wisconsin-Madison, com. pers.). Para América, se ha publicado la secuencia de geminivirus que atacan a varios cultivos; en tomate, el TGMV-BZ (Brasil), y en frijol el

BGMV-GA (Guatemala), BGMV-DR (República Dominicana) y BGMV-BZ (Brasil) (Ramírez y Maxwell 1994). También se ha determinado que bajo grandes presiones de inóculo el ToYMV-CR puede reproducirse en plantas de vainica (Dra. Pilar Ramírez 1996, CIBCM, com. pers.).

Las pérdidas económicas ocasionadas por *B. tabaci* reflejan el impacto del problema sobre la agricultura mundial. En el sur de los EE.UU. (Arizona, California, Texas y Florida) en 1991 y 1992, las pérdidas se estimaron en \$200 y \$500 millones, respectivamente. En el Valle Imperial, California, entre 1991-95, han sido de \$100 millones por año (Henneberry *et al.* 1996). En Mesoamérica y el Caribe también se han registrado cuantiosas pérdidas. Por ejemplo, en Boaco, Nicaragua, la producción de frijol decreció de 3,15 a 0,70 t/ha (Comisión Nacional de Mosca Blanca 1993). En Comayagua, Honduras, en 1992, 500 productores perdieron cerca de \$4,6 millones (Caballero y Rueda 1993). En el Valle Central de Costa Rica, el rendimiento del cultivo del tomate ha descendido de 35 a 21 t/ha (Gustavo Calvo 1997, CATIE, com. pers.) A estas pérdidas debe sumársele el aumento en los costos de producción, debido sobre todo al uso de insecticidas, lo cual causa riesgos de residuos en los alimentos y el agua, intoxicaciones laborales, disminución de enemigos naturales, evolución de resistencia, cuyo valor es prácticamente imposible de medir (Hilje 1996).

4.2 BIOTIPOS

En *B. tabaci*, la variación en las preferencias de hospedantes, ciclos de vida y capacidad de transmisión de enfermedades se ha observado entre poblaciones de diferentes regiones y hábitats. La literatura registra muchos estudios realizados con el objetivo de alcanzar una comprensión clara de la caracterización biológica y genética que diferencia los biotipos de *B. tabaci*. En uno de los estudios más completos (Bedford *et al.* 1994) se evaluaron 18 poblaciones de *Bemisia* provenientes de diferentes regiones del mundo (Norte y Centroamérica, el Caribe, África, el Medio Oriente, Asia y Europa); se estudió la morfología del 4º instar ninfal y se concluyó que la estructura de los ojos compuestos es común a todos los biotipos y poblaciones, pero las setas y espinas fueron muy variables,

dependiendo del tipo de plantas hospedantes y de las características de la superficie de la hoja.

Recientemente se han encontrado diferencias entre poblaciones de *B. tabaci* (Bellows *et al.* 1988), las cuales sugieren que *B. tabaci* y *B. argentifolii*, también denominada biotipo B, son dos especies diferentes o miembros de un complejo de especies (Brown *et al.* 1995b). Varios autores describen al biotipo B (también denominado como mosca blanca de la hoja plateada) como un eficiente vector de enfermedades virales y causante de daños mediante la alimentación directa (Mehta *et al.* 1994, McGrath y Harrison 1995), que resultan en los síndromes previamente indicados. Además, este biotipo ha desplazado en varias regiones al biotipo A, debido a su mayor fecundidad y hábitos polífagos de alimentación (Brown 1992 en Wagner 1995, Markham *et al.* 1994).

Algunos experimentos sobre el comportamiento copulatorio mostraron que el biotipo B no fue capaz de cruzarse con otros biotipos (Bedford *et al.* 1994), pero otros autores (Brown *et al.* 1995) afirman que es capaz de aparearse y originar prole con otros biotipos; por lo tanto, su connotación como biotipo o especie todavía es polémica entre los investigadores dedicados a su estudio. El cortejo del biotipo B dura aproximadamente un tercio de el del biotipo A (Powell y Bellows 1992). El incremento en la distribución del biotipo B, así como su amplio ámbito de hospedantes, ha agravado el problema de los geminivirus en los cultivos tropicales (Markham *et al.* 1994). Su distribución geográfica en la actualidad abarca regiones tropicales y templadas. Para 1990-91 se hallaba exclusivamente en el Caribe (Antigua, Barbuda, República Dominicana, Grenada, Puerto Rico, Trinidad y Tobago) y en algunas áreas urbanas de la península de Yucatán (Quintana Roo) pero para 1992-93 se extendió hacia Belice, Brasil, Guatemala, Honduras, Panamá y el noreste de México (Sonora) (Brown 1994).

A pesar de la idea de que *B. tabaci* es polífaga, recientemente han sido descubiertas poblaciones monófagas, por lo que segmentos de poblaciones con amplio ámbito de hospedantes podrían ocupar nichos separados dentro de las mismas regiones geográficas (Brown *et al.* 1995b). Por ejemplo, una población de *B. tabaci* en Puerto Rico, denominada

la raza de la *Sida*, puede colonizar numerosas especies de plantas (incluyendo frijol, okra, y tabaco, así como muchas especies de malezas), representativas de malváceas, euforbiáceas y leguminosas, comúnmente encontradas en las regiones tropicales y subtropicales (Brown *et al.* 1995a).

En América Central y el Caribe, mediante el empleo de técnicas de diferenciación de isoenzimas, hospedantes, e inducción de síndromes, se han logrado caracterizar al menos siete biotipos, denominados A, B, C, D, F, G y N, según la cronología de su descubrimiento (Brown, 1993). En Costa Rica, el biotipo predominante en el cultivo de tomate es el C (Brown 1994), cuya tasa de reproducción en el cultivo es casi nula, pero es un problema serio como vector de geminivirus (Hilje *et al.* 1993, Brown 1994). En el Valle Central, que es la principal zona productora del cultivo de tomate, la multiplicación no se había observado hasta 1992, pero actualmente es muy leve y esporádica, en etapas muy avanzadas del cultivo, cuando ya no se aplican insecticidas y no hay cultivos adyacentes; por el contrario, se ha observado la reproducción masiva en plantas de chile dulce (Arias y Hilje 1993). También se han encontrado ninfas en algunas plantas silvestres como *Bidens* sp., *Momordica* sp., *Sida* sp., *Acnistus arborescens* y *Solanum nigrum*.

4.3 HOSPEDANTES

La distribución cosmopolita de *B. tabaci* se ve acrecentada por el amplio ámbito de hospedantes silvestres y cultivados que se han registrado hasta ahora, que incluye más de 500 especies (Brown y Bird 1992, Greathead 1992, Brown *et al.* 1995, Wagner 1995), las cuales se encuentran distribuidas en 74 familias, predominando las Leguminosae, Compositae, Malvaceae, Solanaceae, Euphorbiaceae, Convolvulaceae y Cucurbitaceae (Greathead 1992). En Mesoamérica se tienen informes de 70 especies hospedantes, las cuales pertenecen a 39 familias, tanto cultivadas como silvestres, predominando las Compositae (17 especies), Solanaceae (10), Cucurbitaceae (8), Malvaceae (7), Euphorbiaceae (5) y Leguminosae (4) (Hilje 1995). En Costa Rica, ataca 10 cultivos (Hilje 1995), pero no se reproduce en todos, destacándose al algodón y chile dulce, en los que

puede causar daños directos por la extracción de savia, e indirectos por la secreción de mielcilla (Hilje *et al.* 1993).

En América Latina y el Caribe, *B. tabaci* ha causado problemas en *Ipomoea batatas* (camote) (Convolvulaceae); *Citrullus lanatus* (sandía), *Cucumis melo* (melón), *C. sativus* (pepino), *Cucurbita maxima* (zapallo), *C. mixta* (pipian), *C. moschata* (ayote) (Cucurbitaceae); *Glycine max* (soya) y *Phaseolus vulgaris* (frijol) (Leguminosae); *Gossypium hirsutum* (algodón) e *Hibiscus esculentus* (okra) (Malvaceae); *Capsicum annuum* (chile dulce), *Lycopersicon esculentum* (tomate), *Solanum melongena* (berenjena), *S. tuberosum* (papa) y *Nicotiana tabacum* (tabaco) (Solanaceae) (Brown 1990, Lourençao y Nagai 1994, Caballero y Pitty 1995).

En el Valle de Sébaco, Nicaragua, se detectó la presencia de *B. tabaci* en cinco cultivos (tomate, chile dulce, frijol, pepino y rábano) y en 19 plantas silvestres, de las cuales *Tithonia rotundifolia* (Asteraceae), *Malvastrum* sp. (Malvaceae), *Euphorbia heterophylla* (Euphorbiaceae), *Physalis lagascea* (Solanaceae) y *Melampodium divaricatum* (Asteraceae) podrían jugar un papel importante en la dinámica poblacional del insecto (Guharay 1994).

En Costa Rica se ha encontrado a *B. tabaci* en las siguientes malezas asociadas con los cultivos de chile dulce y tomate: *Browallia americana* (Solanaceae), *Galinsoga* sp. (Compositae), *Ipomoea* sp. (Convolvulaceae), *Phenax* sp. (Urticaceae), *Richardia scabra* (Rubiaceae), *Scoparia dulcis* (Scrophulariaceae) y tres asteráceas no identificadas (Rivas *et al.* 1995).

Las malezas también podrían jugar un papel importante como hospedantes de geminivirus y de otros virus. En Florida, *Solanum viarum*, la cual es una maleza exótica, se identificó como hospedante de los virus del mosaico del pepino (CMV), del enrollamiento de la hoja de la papa (PLRV), Y de la papa (PVY), “tobacco etch virus” (TEV), así como de los geminivirus del mosaico del tomate (ToMV) y del moteado del tomate (TMoV). Mc Govern *et al.* (1994a) también realizaron pruebas de transmisión del TMoV desde plantas de *S. viarum* hacia plantas de chile dulce y tomate, observándose gran variedad de

síntomas. Además se probaron 780 muestras de campo representando a 42 especies y 14 familias, y se encontró que únicamente *M. lathyroides*, *Sida acuta* y *S. rhombifolia* fueron positivos en la prueba de detección de geminivirus y expresaron los síntomas correspondientes, pero el geminivirus fue diferente del ToMV. Además, algunas malezas asintomáticas, como *Ludwigia decurrens*, *L. erecta*, y *L. octovalvis*, dieron resultados positivos para el análisis de identificación de geminivirus, pero no pudieron ser infectadas por insectos virulíferos portadores del ToMV (Mc Govern 1994b). Para el caso del TYLCV se han reportado 15 especies de plantas hospedantes alternas: *Chaerogphyllum* sp., *Cynanchum acutum*, *Sonchus oleraceae*, *Lens esculenta*, *Phaseolus vulgaris*, *Malva nicaensis*, *M. parviflora*, *Datura stramonium*, *Hyocyamus desertorum*, *Nicotiana glutinosa*, *N. tabacum*, *Solanum nigrum* y *Urtica* sp. (Polston et al. 1994).

En Nicaragua se ha reportado a *Boerhavia erecta* (Nyctaginaceae) como reservorio de geminivirus (Dr. Douglas P. Maxwell 1997, University of Wisconsin-Madison, com. pers.). Zamora (1996) reportó a *Sida acuta* y *S. rhombifolia* como reservorios del BDMV (Beans Dwarf Mosaic Virus). En Costa Rica se han encontrado cinco tipos diferentes de virus en 14 malezas asociadas con el tomate y chile dulce: moteado leve del chile (PMMV), X de la papa (PVX), Y de la papa (PVY), del mosaico del tabaco (TMV) y un geminivirus no identificado. Los geminivirus se detectaron en ocho especies de plantas, de las cuales solamente cuatro mostraron síntomas de virosis (*Bidens pilosa*, *Desmodium* sp., *Sida rhombifolia* y *Spermacoce latifolia*) lo cual indica que, aunque portan virus, pueden permanecer asintomáticas (Rivas et al. 1995); también, cinco especies tuvieron varios geminivirus simultáneamente, lo que parece ser una situación frecuente en la naturaleza.

4.4 GEMINIVIRUS

Los virus comprenden un enorme grupo de patógenos con características muy diversas (Bock 1982). En su forma más simple, se caracterizan por poseer un solo tipo de ácido nucleico, el cual es la parte infecciosa de la partícula viral. Además, cuentan con una o más proteínas que los recubren, confiriéndole una morfología típica y protegiendo al ácido nucleico de la degradación (Lastra 1993). Los geminivirus (gemini = gemelo) son el grupo

de virus fitopatógenos más recientemente descritos (Bock 1982). El primer geminivirus fue purificado de plantas de tomate infectadas por el tomato golden mosaic virus (TGMV) (Brown y Bird 1992).

La identificación de geminivirus transmitidos por *B. tabaci* a través de métodos virológicos tradicionales, ha presentado dificultades (Wyatt y Brown 1996). Para el diagnóstico de virus en general, los métodos serológicos han sido tradicionalmente la herramienta de análisis. Sin embargo, han tenido poco éxito con los geminivirus, debido a que las propiedades físicas y químicas de las partículas hace difícil su purificación en una forma estable y, además, la cápside proteica de los geminivirus transmitidos por *B. tabaci* no son, antigénicamente, identificables con la mayoría de los anticuerpos monoclonales y policlonales (Mehta *et al.* 1994, Harrison 1985).

Las tecnologías basadas en la manipulación de los ácidos nucleicos han sido un paso importante para la detección de geminivirus, dentro las que destacan la hibridación de ácidos nucleicos y la reacción en cadena de la polimerasa o PCR (Ramírez 1997).

La hibridación de ácidos nucleicos es una de las técnicas más confiables para el diagnóstico de geminivirus. Fundamentalmente, consiste en la utilización de sondas específicas (secuencias de un ácido nucleico que ha sido clonado y marcado en condiciones de laboratorio) que son complementarias al ADN viral y que, bajo condiciones apropiadas, son capaces de “reconocer” la molécula de ADN viral; dicho híbrido puede ser identificado a partir del marcador incorporado en la sonda (Lastra 1993).

La técnica de PCR basa su especificidad en el uso de oligonucleótidos complementarios a los segmentos terminales de la secuencia de ADN que se quiere amplificar (Ramírez y Maxwell 1995). Es una técnica *in vitro* que permite la amplificación de regiones específicas de ácidos nucleicos, mediante la extensión simultánea de iniciadores de cadenas complementarias de ADN (Newton y Graham 1994). El método implica la ejecución de una serie repetitiva de ciclos, cada uno de los cuales involucra la desnaturalización del ADN, la unión del iniciador con la cadena desnaturalizada (por acción de la polimerasa) y

la síntesis, a partir del iniciador, de la doble cadena mediante la adición de nucleótidos libres a la cadena patrón de banda simple. Lo anterior resulta en una acumulación exponencial de un fragmento específico de ADN (Elrich 1989).

Un problema particular de los trópicos es que los virus transmitidos por *B. tabaci* pueden infectar solos o en mezclas (Brown y Bird 1992). Los complejos de estos virus son comunes y esto dificulta el diagnóstico de las enfermedades que ocasionan en diversos cultivos y, por supuesto, la identificación y caracterización de dichos virus.

Los geminivirus bipartitos están constituidos, genómicamente, por dos componentes de ADN designados A y B, los cuales contienen una región intergénica denominada región común, de aproximadamente 200 nucleótidos. Generalmente estos geminivirus infectan plantas dicotiledóneas y son transmitidos solamente por *B. tabaci* (Timmersman *et al.* 1994). De forma específica, los geminivirus transmitidos por *B. tabaci*, que pertenecen al grupo III de la familia Geminiviridae, causan serias enfermedades en hortalizas y plantas textiles (Brown y Bird 1992, Brown 1994). El análisis genético sugiere que las funciones para el movimiento del virus a través de la planta se encuentran en el componente B de su genoma, y se sabe que el componente A controla el mecanismo de replicación, por lo que se requieren ambos componentes para una infección exitosa. Esta diferenciación de funciones entre ambas partículas del geminivirus da lugar, dependiendo del grado de homología entre dos o más geminivirus, a interacciones denominadasseudorecombinación y complementación (Rivera 1995).

El ámbito de hospedantes de los geminivirus transmitidos por *B. tabaci* es más restringido que el de aquellos de genoma monopartito. El más especializado de ellos es el mosaico dorado del frijol, el cual parece estar restringido solo a ciertas especies de unos pocos géneros de la tribu Phaseoleae (Bock 1982). Los demás infectan al menos un género en la familia Solanaceae, sin tomar en consideración la familia en la cual se encuentra su hospedante natural. Curiosamente, dentro de dicha familia, todos infectan especies en los géneros *Datura* (casi siempre *D. stramonium*) y *Nicotiana* (casi siempre *N. tabacum*) y la mayoría a *Lycopersicon*.

4.5 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

En el contexto epidemiológico de una enfermedad existen varios factores, algunos de los cuales tienen un mayor peso relativo que otros. En el cultivo del frijol, para el complejo *B. tabaci*-BGMV se ha modelado matemáticamente la epidemia y se determinó que las variables de tiempo generacional, períodos de retención, reproducción, incubación, transmisión y densidad de siembra tienen poco o ningún efecto sobre el nivel de daño (Anderson 1993). Ello indica que, por lo menos en una primera fase de investigación, no debería invertirse recursos en la cuantificación de estos parámetros. Por otro lado, resultaron ser muy importantes el período crítico, la tasa de inmigración y la proporción de inmigrantes virulíferos, los cuales influyen significativamente en el daño ocasionado (Anderson 1993).

Los geminivirus transmitidos por *B. tabaci* tienen una relación de tipo persistente circulativo con el insecto (Uzcátegui y Lastra 1978, Brown y Nelson 1988, Polston *et al.* 1990). El proceso de transmisión de virus es un proceso secuencial, puesto que el insecto tiene que infectarse para poder tornarse infectivo. Inicialmente el vector tiene que experimentar un período de adquisición que es de al menos 2 h para el geminivirus del mosaico amarillo del tomate en Venezuela (Uzcátegui y Lastra 1978); en Costa Rica, el período mínimo observado fue de 4 h, durante el cual se presentó el porcentaje más alto de transmisión (Bonilla 1995). Cohen *et al.* (1988) en Israel, determinó que la adquisición del TYLCV es mayor mientras más tiempo se alimenta el insecto sobre la planta infectada, hasta un límite de seis días.

El período de latencia puede variar de 20-24 h (Uzcátegui y Lastra 1978, Bonilla 1995). La transmisión de virus del mosaico amarillo del tomate presenta un patrón intermitente durante aproximadamente los 13 días subsecuentes a la colocación de adultos de *B. tabaci* sobre plantas sanas. Al parecer, existe una gran variación intraespecífica en cuanto a la uniformidad de transmisión; es decir, mientras algunos adultos son muy hábiles en la transmisión del virus otros no lo son (Bonilla 1995).

B. tabaci ha mostrado gran habilidad en la transmisión de enfermedades virales como el mosaico amarillo del tomate. Las hembras son más eficientes en la transmisión, pues tienen mayores requerimientos metabólicos para completar la reproducción (Uzcátegui y Lastra 1978), por lo cual presentan mayor actividad de vuelo (Byrne y Bellows 1991). También se ha encontrado que la diseminación del virus está muy correlacionada con el tamaño de la población (Cohen *et al.* 1988). En Costa Rica se ha documentado que, con densidades menores a un insecto por planta, se alcanzó 100% de virosis a los 80 días después de la siembra (Quirós *et al.* 1994).

4.6 ACTIVIDAD Y DISTRIBUCIÓN ESPACIAL DE *B. TABACI*

La migración es un componente clave en la historia de vida de los insectos, puesto que la facultad de desplazamiento da la posibilidad de escoger el tiempo y el lugar para la alimentación y la reproducción. Lo anterior es de gran importancia puesto que algunas especies viven en ambientes muy variables, en los cuales muchas veces los recursos son efímeros, por lo que los insectos están expuestos a períodos en que los hospedantes no están disponibles o no satisfacen todos sus requerimientos vitales (Blackmer y Byrne 1993a).

En la literatura existen reportes acerca de la habilidad limitada de *B. tabaci* para el vuelo dirigido y de la fuerte influencia que ejerce el viento sobre ésta (Byrne *et al.* 1990). *B. tabaci* no es muy eficiente en el vuelo y presuntamente no suele abandonar las plantas que están creciendo en forma vigorosa (Byrne y Houck 1990). En general, bajo condiciones favorables, la mayoría de poblaciones de insectos producen una pequeña porción de emigrantes (Harrison 1980).

En Grecia, Costa Rica, se observó que *B. tabaci* se transportaba predominantemente en la dirección del viento, y también se observó que la cercanía de cultivos o plantas silvestres hospedantes influye en la dirección del vuelo del insecto (Arias y Hilje 1993). En el Valle de Sébaco, Nicaragua, se ha observado que el movimiento de adultos hacia las plantas de tomate depende de la ubicación de éstas dentro del campo en relación con la dirección del viento, y en la mayoría de los campos comerciales se observa un gradiente decreciente de la

incidencia de virosis desde las partes directamente expuestas al viento hacia las partes menos expuestas (Guharay 1994). ? como se ve: mayor incidencia donde hay más viento
menor incidencia donde hay - viento

La distribución geográfica de los insectos en el campo depende fuertemente de sus patrones de actividad. *B. tabaci* presenta dos patrones de vuelo: uno de corta distancia y otro de larga distancia (Byrne y Houck 1990). Por lo tanto, el papel de estos insectos como vectores de geminivirus aumenta debido a que constantemente se mueven a través de cultivos y/o malezas (Gerling y Horowitz 1984). La asociación de *B. tabaci* con hábitats heterogéneos puede ser un componente de selección para el dimorfismo presentado en los hábitos de dispersión (morfos); dicho dimorfismo es el que condiciona algunos segmentos de poblaciones al vuelo a corta distancia y a otros a la migración (Byrne y Houck 1990).

Después de la emergencia, *B. tabaci* realiza sus primeros vuelos, desplazándose hacia las hojas más jóvenes, o cuando emerge sobre un hospedante que no es de su preferencia vuela hacia otro más apetecido (Berlinger 1984).

El vuelo a corta distancia ocurre cuando el insecto se moviliza bajo el dosel del cultivo en busca de hojas jóvenes para su alimentación u oviposición (Cohen y Ben-Joseph 1986, en Byrne y Bellows 1991). El vuelo a larga distancia se da cuando los adultos se alejan de la planta hospedante y viajan, casi pasivamente, transportados por el viento; sin embargo, a pesar de que incluso los morfos migratorios suelen ser malos voladores, se ha determinado que algunos se trasladan a distancias mayores a 7 km. Los adultos de *B. tabaci* generalmente son móviles en áreas donde es marcada la variabilidad entre plantas hospedantes (cultivos de diferentes edades, hospedantes silvestres de preferencia variable, etc.) (van Lenteren y Noldus 1990).

Existe una fuerte atracción de *B. tabaci* por la luz ultravioleta y el azul del cielo explica la tendencia vertical de vuelo que el insecto presenta; sin embargo esto no explica la actividad de vuelo registrada durante la noche y es posible que el factor de luminosidad se encuentre asociado a la temperatura a la cual *B. tabaci* presenta mayor actividad de vuelo (Bellows *et al.* 1988).

Blackmer y Byrne (1993a) estudiaron la influencia de los factores ambientales en la respuesta fototáctica y encontraron que, en condiciones de invernadero, un gran número de adultos de *B. tabaci* presentó una respuesta positiva a la luz, principalmente entre las 08:30 y 10:00 h. Esta respuesta fototáctica varía con la edad del insecto, pues los más jóvenes son más sensibles. El sexo también ejerce una influencia diferencial en dicha respuesta, y los machos presentan un patrón de vuelo más constante durante el día, mientras que la actividad de las hembras predomina por la mañana. Aunque no es lo típico, ambos sexos son capaces de mantenerse en vuelo por períodos de hasta 2 h (Blackmer y Byrne 1993b).

En estudios realizados en diferentes sistemas de cultivos (melón, sandía y algodón) no se encontró correlación entre el número de insectos atrapados y la humedad relativa. Por otra parte, las bajas cantidades de adultos atrapados durante la noche presentaron correlación con las cantidades registradas en el día en condiciones similares de temperatura, lo cual evidencia la influencia de la temperatura en la actividad de vuelo de *B. tabaci* (Bellows *et al.* 1988); sin embargo, el mecanismo mediante el cual la temperatura afecta el número de adultos de *B. tabaci* en vuelo no ha sido determinado.

Los patrones de distribución espacial de este insecto en el campo pueden variar durante la temporada del cultivo, desde aleatorios hasta agregados (Polston *et al.* 1996). Cuando un cultivo se está tornando senescente o bien está en cosecha, los adultos tienden a emigrar en busca de un mejor sitio de colonización y además se ha encontrado que son las hembras las que inician la nueva infestación (Cock 1986). Aunque las tasas de migración ocasionalmente son de gran escala, la generalidad es observar bajos índices de emigración, lo cual sugiere que *B. tabaci* no emigra en masa y que la nueva infestación del cultivo ocurre como un resultado del proceso secuencial de inmigración moderada y explosión de la plaga dentro del cultivo; es decir, que inicialmente unos pocos adultos llegan al cultivo y mediante la reproducción de éstos alcanzan altas poblaciones que causan la epidemia viral en el cultivo (Cock 1986).

4.7 MÉTODOS Y TÉCNICAS DE MUESTREO DE *B. TABACI*

El problema de muestrear de forma precisa ha constituido un dilema para los investigadores relacionados al estudio de *B. tabaci*. Para obtener información biológica y ecológica necesaria para el estudio del ciclo de vida y la importancia económica de un insecto, deben realizarse muestreos (Ekbon y Rumei 1990). Las investigaciones sobre la ecología de *B. tabaci* requiere de un método de muestrear el insecto, que proporcione estimados realistas del tamaño de la población (Abisgold y Fishpool 1990).

La biología, la ecología y sobre todo del patrón de distribución espacial del insecto el constituyen el elemento central para el desarrollo de programas de monitoreo y para la implementación de acciones de manejo de plagas (Ekbon y Rumei 1990, Naranjo y Flint 1995). La eficiencia del muestreo es particularmente crítica para *B. tabaci*, debido a su pequeño tamaño y gran potencial para desarrollar altas densidades poblacionales, por que la eficiencia del muestreo debe balancearse entre los costos y la calidad de la información suministrada por el programa de muestreo (Naranjo y Flint 1994). El desarrollo de planes de muestreo, incluyendo el tamaño de la unidad de muestreo, el número de muestras a tomar y la ubicación de las muestras dentro del universo muestral dependen de la comprensión de los fundamentos de la distribución espacial del insecto que se esté estudiando (Morris 1960).

El desplazamiento de los diferentes estadios de desarrollo de *B. tabaci* impide la generalización de una técnica de muestreo. En todos los cultivos, los adultos y ninfas permanecen en el envés de las hojas (van Lenteren y Noldus 1990). Otro elemento que se debe considerar es la preferencia de las hembras para alimentarse y ovipositar en hojas jóvenes, la cual ha sido documentada para la yuca y el algodón (Fishpool y Burban 1994). El hecho de que todos los estadios ninfales sean sésiles provoca una estratificación de éstos dentro de plantas con crecimiento vigoroso, ubicando a las ninfas más jóvenes en estratos superiores y las más viejas en estratos inferiores (Dubón y Salguero 1993, Fishpool y Burban 1994, Serra 1996).

La mayoría de estimaciones de poblaciones de *B. tabaci* se hacen de acuerdo con los objetivos de cada experimento. El muestreo de adultos puede realizarse de forma eficiente mediante conteos visuales directos (en el envés de las hojas) o bien utilizando trampas para su captura, las cuales pueden ser de diferentes tipos (Ohnesorge y Rapp 1986). Palumbo *et al.* (1995) evaluaron tres técnicas de muestreo (trampas amarillas adhesivas, conteo directo en el envés de las hojas y trampas de tipo D-Vac modificadas) para estimar densidades de adultos de *B. tabaci* en el cultivo de melón (*C. melo*) y no encontraron diferencias entre dichas técnicas. Además, todos los métodos indicaron poblaciones de adultos correlacionadas con densidades de formas inmaduras.

No obstante, las trampas amarillas adhesivas constituyen la técnica más común para estimar la abundancia de adultos de *B. tabaci* en el campo (Ekbon y Rumei 1990). Las capturas dependen del comportamiento del insecto y de otros factores, incluyendo el diseño, orientación, localización, intervalo de exposición y clima, los cuales afectan su eficacia (Naranjo *et al.* 1995). La mayoría de adultos de *B. tabaci* se mueven desde las hojas más viejas hacia las más jóvenes después de su emergencia y la detección de tales hojas jóvenes la realizan a través de su color amarillento (de la misma forma en que lo hacen las hembras adultas) y en esto se fundamenta la atracción de estos insectos por las trampas amarillas adhesivas (Ekbon y Rumei 1990).

Algunos estudios sugieren que la ubicación horizontal de trampas han aportado los mayores números de capturas (Gerling y Horowitz 1984) y además existe una relación inversa entre la altura de la trampa sobre el nivel del suelo y el número de capturas (Gerling y Horowitz 1984, Byrne *et al.* 1986). En general, las trampas deben colocarse al nivel del dosel del cultivo (Naranjo *et al.* 1995). Byrne *et al.* (1986) obtuvieron mayores capturas con trampas adhesivas cilíndricas, colocadas a tres alturas en el borde del campo, que con cualquier otro tipo de ubicación vertical u horizontal. Las diferencias observadas en las capturas, al utilizar varios métodos de muestreo pueden deberse a los hábitos de vuelo de los diferentes biotipos (Naranjo *et al.* 1995).

En general, los datos obtenidos en las capturas de adultos de *B. tabaci* en trampas amarillas sirven como un indicador del movimiento local de *B. tabaci* en el campo (Guharay 1994). En el Valle de Sébaco, Nicaragua, se compararon las capturas de adultos en las trampas amarillas adhesivas colocadas en diferentes alturas y en todos los casos se observó que a 15 cm sobre la superficie del suelo se obtuvieron las mayores capturas, lo cual sugiere que los adultos atrapados reflejan movimientos locales y no migraciones de larga distancia. Sin embargo, Dubón y Salguero (1993) recomiendan colocar trampas a nivel del dosel del cultivo, puesto que si las trampas son colocadas muy cerca del suelo, la maleza puede enmascararlas y pierden su función atrayente para *B. tabaci*.

En relación con la hora de muestreo, Gerling y Horowitz (1984) hallaron que, en algodón, las mejores horas para el muestreo son entre las 06:00 y las 09:00 h, mientras que Naranjo y Flint (1995) reportan que es entre las 06:00 y las 10:00 h. En Costa Rica, la mayor actividad de vuelo de *B. tabaci* se observa entre las 06:30 y 08:30 horas y por la tarde entre las 15:30 y 17:30 horas, lo cual es un elemento importante a considerar para la escogencia del método de muestreo, pues probablemente la técnica de muestreo directo en el envés de las hojas, realizadas en este período, no proporcione estimados realistas debido al desplazamiento de los insectos dentro de la parcela (Arias y Hilje 1993).

El conocimiento de los mecanismos biológicos relacionados con el comportamiento de *B. tabaci*, constituyen las bases para un programa de muestreo; sin embargo, en adición a estos, las herramientas estadísticas proveen métodos para cuantificar las poblaciones y definir patrones de distribución espacial, así como para poder estimar un error asociado con la media muestral. La determinación de una descripción estadística del patrón de distribución espacial del insecto es importante para el desarrollo de un plan de muestreo (Ekbon y Rumei 1990).

4.8 ANÁLISIS ESPACIAL Y TEMPORAL DE EPIDEMIAS VIRALES

La ecología de patógenos de plantas es, en realidad, una sucesión espacio-temporal de eventos, con los patrones espaciales como una de las características más propias de la

especie (Nelson y Campbell 1993). Para la completa comprensión de la epidemiología de cualquier enfermedad transmitida por insectos se debe considerar el estudio del agente causal y su vector, pues es a través de esta interacción que ocurre la epidemia (Wilfert y Lampert 1993). La descripción analítica del patrón espacial de aparición de plantas enfermas es esencial en la evaluación de la diseminación de la enfermedad, aunque este es un fenómeno difícil de cuantificar (Gray *et al.* 1986).

El patrón de distribución espacial de plantas infectadas por virus dentro de un campo es una característica fundamental de la ecología de la enfermedad, puesto que brinda información acerca de la dirección y la distancia de su diseminación, y de la importancia y proximidad de las fuentes primarias de virus, así como de la movilidad del vector (Gray *et al.* 1986, Lecoustre *et al.* 1989).

El grado de agregación espacial de una enfermedad depende, en gran medida, de la distancia de la fuente de inóculo, así como de la variación en las condiciones físicas y agronómicas que ocurren en el campo (Ferrandino 1996). Un patrón aleatorio de plantas infectadas sugiere que, en el tiempo de observación, los patógenos no están siendo diseminados de planta a planta y probablemente la fuente de inóculo esté fuera del campo, mientras que las agrupaciones de plantas infectadas sugieren que la diseminación se da a partir de una fuente de inóculo secundaria, dentro del campo (Madden *et al.* 1982). El movimiento del vector usualmente no está restringido a plantas adyacentes dentro de las hileras del cultivo, pero puede ocurrir en plantas próximas en todas las direcciones dentro del campo (Harrewij *et al.* 1981). Sin embargo, dado que muchos cultivos agrícolas son plantados en hileras, y usualmente la distancia dentro de las hileras es menor que la distancia entre hileras, esta es una razón para suponer que el contagio de plantas sanas dependerá de la orientación de dichas hileras (Ferrandino 1996).

Existen varios procedimientos analíticos y descriptivos para caracterizar y cuantificar los patrones espaciales (Nelson *et al.* 1992, Ferrandino 1996). Gray *et al.* (1986) proponen un método ("*distance class analysis*") que incorpora la orientación y la distancia en el análisis de la distribución espacial de enfermedades en el campo, el cual se ha utilizado

ampliamente (Nelson *et al.* 1992, Nelson y Campbell 1993, Polston *et al.* 1996). El método consiste en definir clases de orientación-distancia y contar el número de veces que éstas se presentan en el campo. Posteriormente, el mismo número de plantas infectadas son asignadas pseudo-aleatoriamente, mediante muchas simulaciones de Monte-Carlo, a una matriz de las mismas dimensiones. De esto se deriva la distribución de probabilidad para evaluar una hipótesis de no aleatoriedad (Gray *et al.* 1986).

El enfoque de este método tiene como objetivo final rechazar una hipótesis de comportamiento aleatorio, y no dice mucho acerca del significado de tal comportamiento no-aleatorio. Por definición, un proceso no-aleatorio es aquel que favorece la presencia de ciertos tipos de resultados; sin embargo, la caracterización de estos resultados más frecuentes, en términos biológicos y descriptivos ha demostrado ser difícil (Ferrandino 1997, en prensa). Una limitación significativa del método de Gray *et al.* (1986), es que el análisis del patrón está restringido a un solo punto en el tiempo, por lo que las hipótesis concernientes al incremento de la enfermedad no pueden ser probadas directamente, y dichos atributos espacio-temporales deben ser inferidos indirectamente de análisis espaciales realizados en forma secuencial (Nelson 1995). Con un enfoque más dinámico, Nelson (1995) propone un método para el análisis espacio-temporal de progreso de la enfermedad en el campo, que consiste en probar la hipótesis de que las plantas que se enferman entre tn y $tn+1$, se distribuyen aleatoriamente en un plano.

Para el virus del moteado del tomate (TMoV), en Florida, se describió la distribución espacial a través de diferentes puntos en el tiempo y se encontró que no hubo una aglomeración significativa de plantas enfermas dentro del campo (Polston *et al.* 1996). Tampoco se han hallado hospedantes alternos de este virus, de lo cual se infiere que la fuente de inóculo primaria, y la más importante, se encuentra en campos de tomate senescentes. Estudios análogos han sido conducidos para los virus del rizado de la hoja amarilla del tomate (TYLCV) (Cohen *et al.* 1988) y el mosaico africano de la yuca (ACMV) (Fargette *et al.* 1990). Para el TYLCV se han encontrado al menos dos malezas hospedantes, en Israel, las cuales sirven como puente entre diferentes ciclos de producción de tomate (Cohen *et al.* 1988). Para el ACMV no se han reportado hospedantes alternos y,

a pesar de que el insecto puede reproducirse dentro del cultivo, se ha demostrado que la principal fuente de inóculo son las parcelas vecinas previamente infectadas; además, la infección depende fuertemente de la dirección del viento y de la fecha de siembra, presentándose alta incidencia de plantas enfermas en los bordes de las parcelas expuestas a la dirección prevalente del viento (Fargette *et al.* 1990).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 MOVIMIENTOS DIARIOS DEL VECTOR

5.1.1 Parcelas

La investigación se realizó en varias fincas, en la Colonia Agrícola Guayabo, en Turrialba, Costa Rica. La Colonia se ubica entre 09°58'37"N y 83°38'45"O, a 840 msnm (Comisión Nacional de División Territorial 1972), dentro de la zona de vida del bosque lluvioso premontano (Tosi 1969). Presenta valores medios anuales de 21°C, 2762 mm y 87% de humedad relativa.

Se establecieron tres parcelas de tomate (var. Hayslip), de aproximadamente 400 m², por trasplante. Los semilleros se hicieron en cartuchos de papel de periódico (Cubillo *et al.* 1994), que se mantuvieron dentro de túneles cubiertos con malla fina (Tildenet IN50). Dos parcelas se trasplantaron el 27 y 29 de mayo de 1997, respectivamente, y la otra el 16 de septiembre, a 1,2 m entre surcos y 40 cm entre plantas. En lo sucesivo, se les denominará parcelas I, II y III, respectivamente. El manejo del cultivo fue el convencional para la zona, pero no se aplicaron insecticidas, para evitar que afectaran las poblaciones naturales de *B. tabaci* en el campo.

La parcela I se encontraba rodeada en los costados NE y SE por plantaciones de café con macadamia, una franja de yuca (*Manihot esculenta*) en el costado NO y una parcela de chile dulce en el costado SO; también había una parcela de tomate de la misma edad en el costado S, en la cual se aplicaron insecticidas. La parcela II se estableció en un terreno más expuesto a la acción del viento, con menos vegetación alta circundante inmediata. En el costado S había

dos parcelas de tomate en producción, contiguas y de diferentes edades, en los costados N y E había plantaciones de café con sombra de poró (*Erythrina poeppigiana*), con una amplia franja de malezas, principalmente de hoja ancha, entre la parcela de tomate y el café; en el costado O había café y poró, separados de la parcela por un camino de unos 5 m de ancho. La parcela III se estableció en el costado SO de la parcela I (cuando ésta se encontraba en senescencia), y se encontraba bordeada por otra parcela de tomate senescente en el costado E, por café y macadamia en los costados SE y SO, con una franja de malezas, predominantemente de hoja ancha, entre ambos cultivos; el borde NO estaba descubierto.

5.2.1 Inmigración y movimientos diarios entre plantas.

La inmigración se midió mediante trampas amarillas adhesivas, de 25 X 15 cm, las cuales se hicieron de lámina plástica, y se impregnaron con de grasa para automotores (Pennzoil 707L). Las láminas se pegaron sobre estacas de madera, a 35 cm del suelo. Se colocaron cuatro en cada borde de la parcela, espaciadas a 5 m y 1,5 m del borde de la parcela (Anexo 1).

Se registró el número de adultos de *B. tabaci* capturados en la cara externa de la trampa, únicamente. Esto se hizo una vez por semana, entre 06:00-18:00 h, cada 2 h, durante 8 y 6 semanas, para las parcelas I y II, respectivamente, a partir de la fecha en que las plantas tuvieron cuatro hojas verdaderas. Para la parcela III se efectuaron 12 muestreos, por lo que durante cuatro semanas los muestreos se intensificaron, realizándose tres veces por semana, en días alternos.

Para estudiar los movimientos diarios entre plantas, las parcelas se dividieron en cuatro cuadrantes, para determinar la influencia del viento en la distribución de *B. tabaci*. Dentro de cada cuadrante, en cada fecha se seleccionaron 10 plantas, aleatoriamente, las cuales se marcaron con cintas de color. Cada 2 h, entre 06:00-18:00 h, se contó y registró el número de adultos de *B. tabaci* en toda la planta, y los adultos fueron ahuyentados de ésta; originalmente se planeó matarlos, pero esta idea se descartó, por las bajas poblaciones presentes en el campo.

Las variables climáticas se midieron cada 2 h. La dirección y velocidad del viento se registró mediante un anemógrafo portátil, que se colocó en el centro de la parcela en cada fecha de muestreo. La temperatura y la humedad relativa se determinaron mediante un higrotermógrafo electrónico, colocado en un borde de la parcela.

Se realizaron análisis de varianza para los promedios de adultos inmigrantes y de adultos repoblando las plantas, en las diferentes fechas de muestreo, para determinar si había diferencias entre los promedios en las diferentes fechas. Se realizó un consolidado de los datos de adultos inmigrantes y adultos repoblando las plantas, para todas las fechas de muestreo y se efectuaron análisis de correlación de Pearson (SAS 1991) para cada fecha y hora, entre variables climáticas y el total de adultos inmigrantes en la parcela (suma de las capturas en todas las trampas), así como el total de adultos repoblando las plantas de tomate (suma de adultos en las 40 plantas muestreadas). Para el caso de la dirección del viento, se realizó análisis de correlación de Spearman (SAS 1991) entre la dirección prevalente del viento y la orientación de las trampas en las que se registraron mayores capturas.

Se efectuaron correlaciones de Pearson entre el total de adultos inmigrantes y el total de adultos repoblando, obteniendo dichas sumas para toda la parcela y también seccionándola por cuadrante. En ambos casos no se incluyó el par de datos correspondiente a las 6 h, dado que no constituye "re población" sino la acumulación de adultos de *B. tabaci* entre dos períodos de muestreo.

5.2 PATRÓN DE DISEMINACIÓN LOCAL DEL MOSAICO AMARILLO DEL TOMATE

5.2.1 Parcelas

Además de las tres parcelas previas, en el análisis se incluyeron datos análogos obtenidos en un experimento sobre coberturas al suelo, efectuado en la misma zona en mayo y junio de 1996 (Hilje *et al.* inédito). Dicho experimento involucró una cobertura viva de "cinquillo" (*Drymaria cordata*, Caryophyllaceae), dos inertes (plástico verde y plástico

plateado) y dos parcelas testigos (suelo descubierto). El objetivo de dicho experimento fue determinar cómo las coberturas interfieren con la capacidad de búsqueda de las plantas de tomate por parte de los adultos de *B. tabaci*. Estas parcelas se encontraban dentro del mismo campo, dispuestas en forma paralela, de este a oeste, en el siguiente orden: plástico plateado, testigo 2, plástico verde, testigo 1 y cinquillo; el campo tenía plena exposición al viento por los cuatro costados (Anexo 2).

5.2.2 Patrón de diseminación

En cada parcela se registró la posición de cada planta, con base en sus coordenadas X y Y, y además la incidencia de la enfermedad del mosaico amarillo del tomate en ellas. Esto se inició apenas se observaron las primeras plantas con síntomas evidentes de la enfermedad (moteado en hojas intermedias y jóvenes, corrugamiento de los brotes terminales, amarillamiento del follaje y reducción del crecimiento). Dichos recuentos, semanales, se extendieron entre 5 y 8 semanas, dependiendo de las características propias de la epidemia en cada parcela. Se realizaron mapas de distribución de dichas plantas infectadas a través del tiempo.

En cuanto al método de análisis, para cada parcela se construyó un plano, con un punto representando a cada planta, de modo que fue posible definir la posición de una planta específica en función de la distancia al origen. Se definieron las coordenadas de las plantas según la distancia de siembra, por lo que, por ejemplo, se consideró como 0,00:0,00 a la planta situada en el extremo superior izquierdo del plano, y como 0,00:0,40 a la siguiente planta dentro de la primera fila.

Con el análisis se pretendió saber si una nueva infección dentro de la parcela estaba relacionada con la presencia de otras plantas infectadas a su alrededor, en puntos anteriores en el tiempo. La idea básica era complementar las consideraciones espaciales clásicas (Gray *et al.* 1986, Nelson y Campbell 1992, Nelson 1995) con un enfoque más dinámico, no solamente considerando *un* punto en el tiempo, sino más bien observando los cambios a través de las series de tiempo registradas en el campo (Dr. Christoph Kleinn 1997, CATIE, com. pers.).

Se pretendió determinar la influencia de la distancia y el ángulo entre plantas infectadas en un punto en el tiempo (t_{n+1}), con otras plantas infectadas en cualquier otro punto anterior en el tiempo. Además, se quiso determinar la relación entre la condición sanitaria de cada planta (sana o enferma) y el número de plantas enfermas en un círculo de radio definido y con centro en dicha planta. Para efectuar dicho análisis se utilizó el programa EPIDEMIC (Anexo 11), compilado en Turbo Pascal, Release 7.0 (Borland International Inc. ®) y desarrollado para este fin por el Dr. Christoph Kleinn (CATIE). Este programa calcula para cada punto en el tiempo (t_{n+1}), para cada planta nuevamente infectada y para cada planta todavía sana en t_{n+1} (designada como planta de referencia), lo siguiente:

- Distancia (en metros) a la planta más próxima que ya estaba infectada en el punto t_n en el tiempo.
- Ángulo (en radianes) entre el vector que va desde la planta ya infectada en t_n hacia la planta de referencia y la dirección del eje Y.
- Ángulo (en radianes) entre la dirección prevalente del viento y el vector formado por la planta ya infectada en t_n con la planta de referencia.
- Número total de plantas, así como de plantas infectadas, dentro de un círculo de radio 0,99, 1,99,....., 5,99 m, con centro en la planta de referencia, cuya condición sanitaria también fue registrada (0 = sana, 1 = infectada).

Se realizaron regresiones logísticas para determinar la influencia de dichas variables en la probabilidad de ocurrencia de la enfermedad, $P(Y=1)$ (Anexo 12). La variable de respuesta fue la condición sanitaria de la planta, considerada como binaria, (0=sana, 1=infectada), y las variables predictoras fueron la distancia, ángulo relativo a la dirección del eje Y, ángulo relativo a la dirección prevalente del viento y número de plantas infectadas en un círculo de radio 0,99, 1,99,....., 5,99 m.

Para fines de interpretación de la regresión logística, el cociente de probabilidad de ocurrencia, CPO (en inglés, "odds") se define como:

$$CPO = \frac{P(y=1)}{P(y=0)}$$

Se aplica una transformación logarítmica al calcular la regresión logística para linealizar el modelo. Luego el coeficiente b_i estima el cambio en el logaritmo de la CPO cuando x_i se incrementa en un unidad, manteniendo todas las otras x' , fijas. Por lo tanto, el antilogaritmo de dicho coeficiente, e^{b_i} , estima la CPO del evento; finalmente $(e^{b_i}) - 1$, estima la tasa de cambio porcentual (incremento o decremento) en la CPO cuando x_i se incrementa en una unidad, manteniendo todas las otras x' , fijas (Mendenhall y Sincich 1996).

5.2 FUENTES DE INÓCULO PRIMARIO DEL TOYMV-CR

5.2.1 Muestreo de plantas

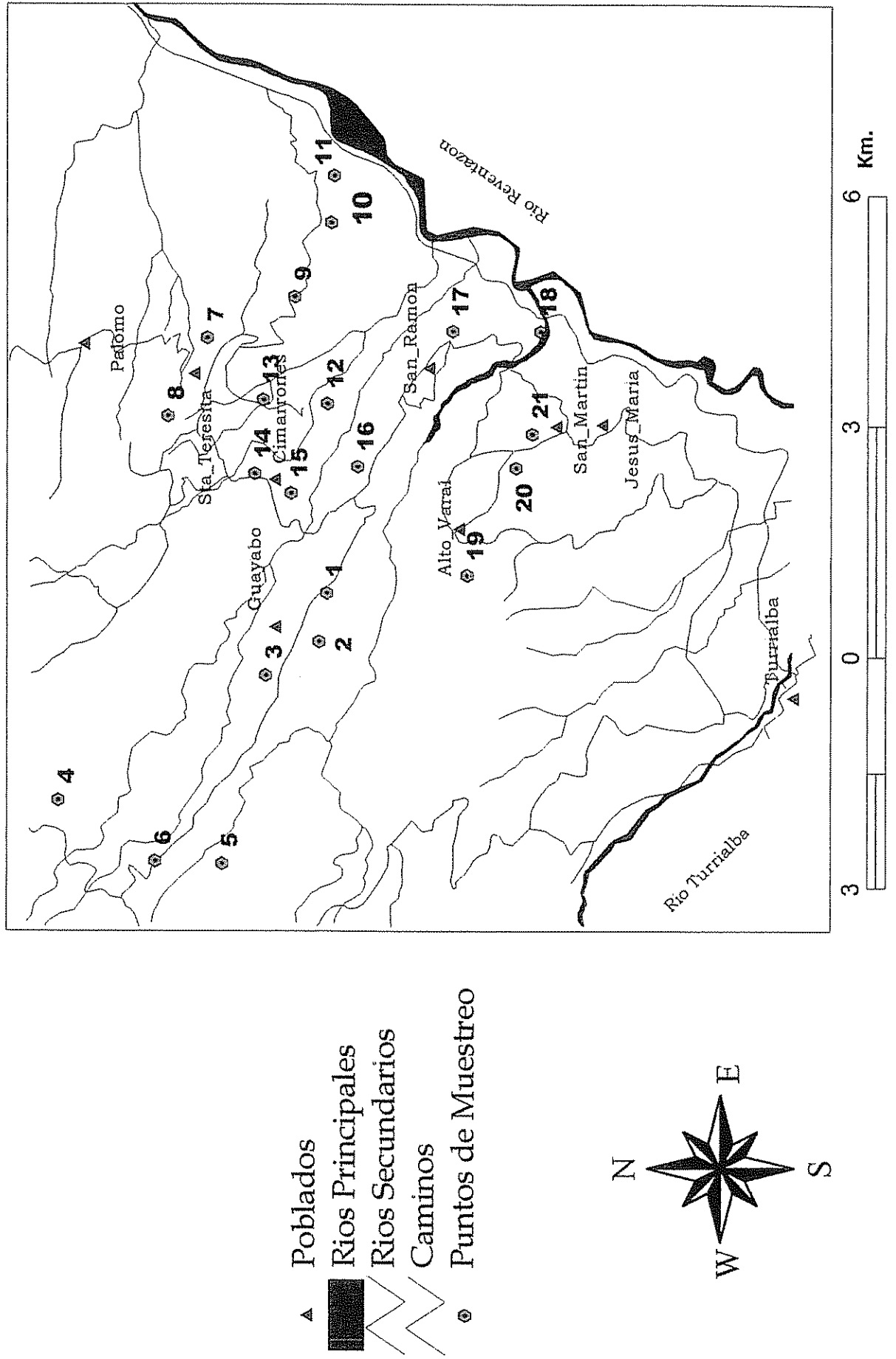
Cada dos semanas, de noviembre de 1996 a agosto de 1997, se realizaron muestreos intensivos de malezas, para la búsqueda de hospedantes silvestres del ToYMV-CR. Los criterios para la selección de las muestras fueron la presencia de ninfas o adultos de *B. tabaci*, y/o de síntomas aparentes de virosis en las malezas.

El muestreo se hizo en parcelas de tomate y en campos de chile, cucurbitáceas, tomate y vainica mantenidos en barbecho en áreas cercanas a las parcelas de esos cultivos en desarrollo. Se realizó dentro de las parcelas, así como en sus alrededores, en un radio definido por la presencia de los criterios de recolección; es decir, el muestreo se continuó mientras se encontraron plantas que cumplieran con dichos requisitos.

Además, se muestrearon plantas de chile dulce, frijol, vainica y cucurbitáceas, para investigar si estos cultivos actúan como hospedantes alternos del ToYMV-CR. Dichas plantas fueron recolectadas según los mismos criterios de clasificación.

Para todos los campos donde se realizaron los muestreos se tomaron las coordenadas utilizando un sistema de posicionamiento global (GPS) para geo-referenciar dichos puntos (Fig. 1).

Figura 1. Distribución de los puntos de muestreo de malezas, efectuado entre noviembre de 1996 y agosto de 1997.



5.2.1 Importancia relativa de las malezas

Para determinar la importancia relativa de cada una de las especies de malezas predominantes, en las mismas fincas se realizó un muestreo, utilizando una versión modificada del método “punta de zapato” (CATIE/INTA-MIP 1997). Este consistió en hacer un recorrido dentro de cada parcela o área definida y, cada 10 pasos, identificar y anotar la especie más cercana a la punta del zapato del observador. Este método permite muestrear de manera amplia y sistemática todos los surcos de la parcela, para obtener una visión general de las malezas predominantes en el terreno. Cada muestreo se inició en uno de los surcos del borde de la parcela.

Con los datos se calculó el *índice de abundancia relativa*, mediante la siguiente fórmula: $IAR = (NME / NTM) 100$, donde: *IAR* (índice de abundancia relativa), *NME* (número de malezas de cada especie) y *NTM* (número total de malezas) (CATIE/INTA-MIP 1997).

5.2.3 Inoculación de plantas

Para determinar si el ToYMV-CR se puede replicar en ellas, en un invernadero completamente cubierto con malla fina (Tildenet IN50), en el CATIE, se realizaron pruebas de inoculación en tres plantas de cada una de las siguientes especies: chile dulce, frijol, *Spananthe paniculata* (Apiaceae), *Hemidiodia* sp. (Rubiaceae) y *Spermacoce latifolia* (Rubiaceae). La selección de estas especies obedeció a la frecuencia con que estas plantas satisfacían los criterios de recolección en el campo. Para la inoculación, se utilizaron adultos de *B. tabaci* virulíferos, provenientes de las colonias mantenidas en otro invernadero de CATIE. En cada una de las plantas inoculadas se colocó una microjaula plástica (Serra 1996), que contenía 10 adultos de *B. tabaci*, la cual se dejó ahí 10 días o hasta la muerte de los adultos.

5.2.3 Detección del ToYMV-CR

En el campo, las muestras de malezas y de cultivos se recolectaron tomando varias hojas de las plantas seleccionadas y colocándolas en bolsas plásticas. Para cada una se hizo una ficha con la siguiente información: código de la muestra (número del muestreo y de la muestra), lugar y fecha de recolección, criterio de recolección, clasificación taxonómica, abundancia relativa y ubicación (dentro, en el borde o fuera del cultivo).

Las muestras se colocaron en una hielera y se transportaron al Laboratorio de Entomología del CATIE donde, utilizando tubos Eppendorf autoclavados y guantes estériles, se tomaron 10 discos de cada muestra. Dichos tubos se colocaron en nitrógeno líquido (a -196°C), para reducir la oxidación de polifenoles que pudieran causar degradación de los ácidos nucleicos, y después se mantuvieron a -17°C , hasta que se realizó la liofilización. Además, simultáneamente se prepararon duplicados de las muestras, secadas al aire, para lo cual se cortaron pequeñas secciones de hoja, con tijeras esterilizadas, y se colocaron en cajas de petri expuestas al aire, para lograr su secado.

Para las plantas indicadas en la sección 5.2.3, el procedimiento de preparación fue similar. Sin embargo, como ésta se realizó en el invernadero, las muestras fueron tomadas directamente con tubos Eppendorf, los cuales fueron congelados en nitrógeno líquido, continuando posteriormente el procedimiento ya descrito, que incluyó la duplicación de muestras secadas al aire.

Todas las muestras fueron trasladadas al laboratorio del Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular (CIBCM), en la Universidad de Costa Rica, donde se realizó el análisis de detección de geminivirus a través de las técnicas de hibridación de ácidos nucleicos, utilizando sondas radioactivas y frías (Ramírez y Rivera-Bustamante 1996), con protocolos específicos (Anexo 13) .

7. RESULTADOS

7.1 MOVIMIENTOS DIARIOS

El número de adultos inmigrantes fue similar en todas las parcelas a través del tiempo ($p > 0,05$), lo mismo que el número de adultos que repoblaron las plantas muestreadas, excepto en la parcela I ($p < 0,01$), por lo que los datos en ambos casos se consolidaron previamente al análisis de correlación (Cuadro 1, Anexos 14 y 15).

Cuadro 1. Análisis de varianza para las variables número de adultos inmigrantes y número de adultos repoblando las plantas de tomate muestreadas, para las diferentes fechas de muestreo.

	Total adultos inmigrantes		Total adultos repoblando	
	F	Pr > F	F	Pr > F
Parcela I	1,49	0,1927	4,67	0,0005
Parcela II	0,92	0,4785	1,90	0,1189
Parcela III	0,73	0,7020	0,29	0,9852

Las condiciones climáticas prevalentes durante el período de estudio no influyeron en los patrones de movimiento de los adultos, o lo hicieron de manera incongruente, según se desprende del análisis de correlación (Cuadro 2). Contrario a lo esperado, el total de adultos inmigrantes no fue influido por la velocidad del viento en ninguna de las parcelas ($p > 0,05$). Sin embargo, sí se notó una tendencia a que el total de adultos que repoblaron las plantas disminuyera con el incremento en la velocidad del viento, lo cual fue más notorio en la parcela III ($p > 0,01$). El efecto de la dirección del viento se calculó correlacionándolo con la orientación del conjunto de trampas en las que se obtuvieron mayores capturas. Las mayores capturas de adultos no estuvieron asociadas con aquellas trampas ubicadas en la dirección prevalente del viento, excepto en la parcela II ($p < 0,05$).

Cuadro 2. Coeficientes de correlación (Pearson) para las variables climáticas registradas, el total de adultos inmigrantes y el total de adultos repoblando las plantas muestreadas.

	Total adultos inmigrantes	Total adultos Repoblando
Parcela I		
Velocidad del viento	-0,1033 n.s.	-0,2585 n.s.
Temperatura	0,1213 n.s.	0,1276 n.s.
Humedad relativa	0,0219 n.s.	0,2476 n.s.
Parcela II		
Velocidad del viento	-0,1109 n.s.	-0,2523 n.s.
Temperatura	0,1514 n.s.	0,1884 n.s.
Humedad relativa	-0,0804 n.s.	0,1905 n.s.
Parcela III		
Velocidad del viento	-0,2097 n.s.	-0,3500 **
Temperatura	0,4053 **	-0,1045 n.s.
Humedad relativa	-0,3663 **	0,0105 n.s.

* : significativo a $p < 0.05$, **: significativo a $p < 0.01$

La inmigración fue afectada por las variaciones de temperatura registradas únicamente en la parcela III, en la cual se observó una correlación positiva y altamente significativa ($p < 0,01$), pero no fue así para el total de adultos repoblando las plantas, para ninguna parcela ($p > 0,05$) (Cuadro 2). La variación en la humedad relativa no afectó la inmigración en las parcelas I y II ($p > 0,05$) pero sí afectó, en forma inversa y altamente significativa, a la parcela III ($p < 0,01$) (Cuadro 2). El total de adultos repoblando las plantas no mostró una correlación significativa con la humedad relativa, en ninguna de las parcelas ($p > 0,05$).

Cuadro 3. Coeficientes de correlación (Spearman) entre la ubicación de trampas que registraron mayores capturas y la dirección del viento.

	Parcelas		
	I	II	III
Trampas vs. dirección del viento	-0,0484	0,4152*	-0,0559

* : significativo a $p < 0.05$, **: significativo a $p < 0.01$

El patrón diurno de inmigración de adultos en las tres parcelas fue análogo (Fig. 2). Temprano la actividad fue baja, pero se incrementó progresivamente hasta alcanzar el máximo a las 10 h en las parcelas I y III, y a las 8 h en la II. Después declinó en las tres, hasta alcanzar un mínimo entre las 12-14 h, dependiendo de la parcela, y por la tarde se incrementó de nuevo, declinando posteriormente. Por su parte, las tendencias en la repoblación de las plantas de tomate fueron muy coincidentes entre las parcelas (Fig. 2). Hubo actividad durante todo el período diurno, con el máximo de adultos posados a las 6 h, una declinación progresiva hasta cerca del mediodía y un leve incremento adicional durante la tarde. Hubo correlación, positiva y significativa ($p < 0,05$) entre los números de adultos inmigrando y la repoblación en las plantas para las parcelas II y III, pero el coeficiente de correlación no fue alto (Cuadro 4). La correlación entre dichas variables, al realizarse por cuadrante, fue positiva y altamente significativa para la parcela III, con un coeficiente alto.

Cuadro 4. Coeficientes de correlación (Pearson) entre el total de adultos repoblando las plantas muestreadas y el total de adultos inmigrantes.

	Toda la parcela	Por cuadrante
Parcela I	0,0657	0,0608
Parcela II	0,3542*	-0,3235
Parcela III	0,3012*	0,6453**

* : significativo a $p < 0.05$, **: significativo a $p < 0.01$

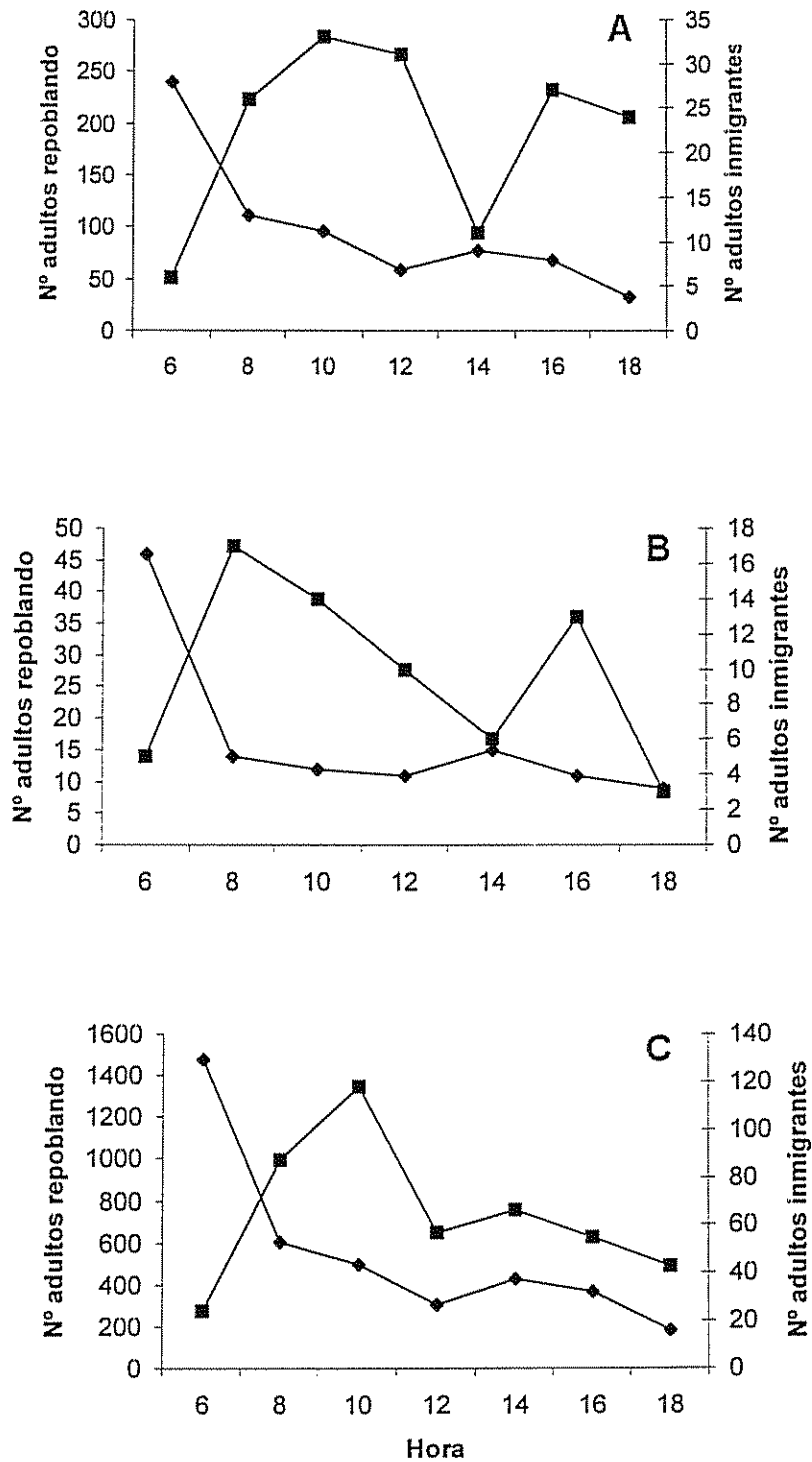


Figura 2. Total de adultos de *B. tabaci* inmigrantes (■) o repoblando (◆) las plantas muestreadas (n=40), para las parcelas I (A), II (B), III (C).

7.2 PATRÓN DE DISEMINACIÓN LOCAL DEL MOSAICO AMARILLO DEL TOMATE

7.2.1 Análisis de regresión para todos los puntos en el tiempo

Mediante el análisis de regresión logística se pretendió conocer la influencia de variables independientes, como la distancia y ángulo a una planta ya infectada y el número de plantas infectadas alrededor (en lo sucesivo denominada "círculo"), sobre la condición sanitaria (infectada o sana) de las plantas en el tiempo t_n+1 . El modelo utilizado logró describir la influencia de la distancia y el círculo sobre el estado sanitario de plantas individuales de tomate, cuando se utilizaron todas las observaciones ($p < 0,01$) (Cuadro 5). Dicha condición no fue influida por el "ángulo relativo a la dirección del eje Y" ni el "ángulo relativo a la dirección prevalente del viento", ni tampoco para la variable "círculo" cuando su radio fue de 1,99, ..., 5,99 m.

Cuadro 5. Resultados del análisis de regresión logística, para la distancia a la planta más próxima ya infectada en cualquier punto anterior en el tiempo y el número de plantas infectadas en un círculo de 0,99 m de radio.

Parcela	Variable	-2 LOG L	P
I	Distancia	**	0.0001 **
	Círculo	**	0.0001 **
II	Distancia	**	0.0001 **
	Círculo	**	0.0341 *
III	Distancia	**	0.0001 **
	Círculo	**	0.0282 *
Testigo 1	Distancia	**	0.0001 **
	Círculo	**	0.0641 ns
Testigo 2	Distancia	**	0.0001 **
	Círculo	**	0.7651 ns
Cinquillo (CQ)	Distancia	**	0.0001 **
	Círculo	**	0.0013 **
Plástico verde (PV)	Distancia	**	0.0001 **
	Círculo	**	0.0001 **
Plástico plateado (PP)	Distancia	**	0.0001 **
	Círculo	**	0.0001 **

* : significativo al nivel ($p < 0.05$), ** : significativo al nivel ($p < 0.01$), ns = no significativo.

Con la prueba de chi-cuadrado se estimó la probabilidad de que, específicamente, el coeficiente correspondiente a la variable “distancia” o “círculo”, fueran diferentes de cero. Para la “distancia”, en todos los casos hubo un efecto altamente significativo sobre la probabilidad de que una planta se enfermara ($p < 0,001$) (Cuadro 5). El “círculo” tuvo un comportamiento menos constante, con un efecto altamente significativo para las parcelas I, PV y PP ($p < 0,01$), significativo para II, III y CQ ($p < 0,05$), y no significativo en las parcelas testigos.

La significancia de dicha regresión se refiere al efecto de ambas variables a través de todos los puntos en el tiempo en los cuales se registró la incidencia de la enfermedad. No obstante, puesto que el efecto de la “distancia” sobre la probabilidad de infección de las plantas era mayor en los últimos puntos (Anexos 3-10), cuando casi todas las plantas estaban enfermas, fue necesario explorar con mayor detalle la contribución de cada punto en el tiempo en el comportamiento del modelo. Una situación análoga presentó el “círculo”, puesto que en los últimos puntos la probabilidad de que el círculo tuviera en su centro una planta enferma era mucho mayor que la de tener una planta sana; además, el número de plantas enfermas en el círculo tendería siempre a cinco, que era el número máximo de plantas.

El desarrollo de la enfermedad a través del tiempo (Fig. 3) para cada una de las parcelas, se presenta en tres bloques separados que corresponden a tres etapas diferentes en la recolección de los datos. En las parcelas I y II el desarrollo de la enfermedad fue lento (Fig. 3A), con una tasa de incremento reducida, alcanzando una incidencia final inferior a 63% y 50%, respectivamente. En la parcela III, la tasa de incremento de la enfermedad fue muy alta (Fig. 3B) y se alcanzó un porcentaje de plantas infectadas cercano a 100%, en el punto 5. En las parcelas con coberturas al suelo (Fig. 3C), el avance de la enfermedad fue muy rápido para las parcelas testigos, los cuales alcanzaron casi el 100% de las plantas infectadas en el punto 5, mientras que en las parcelas PV, CQ y PP, en ese orden, se observó un desarrollo de la enfermedad cada vez más lento; en la parcela CQ no fue posible evaluar la incidencia de la enfermedad después del punto 5, debido a daños del tizón tardío (*Phytophthora infestans*).

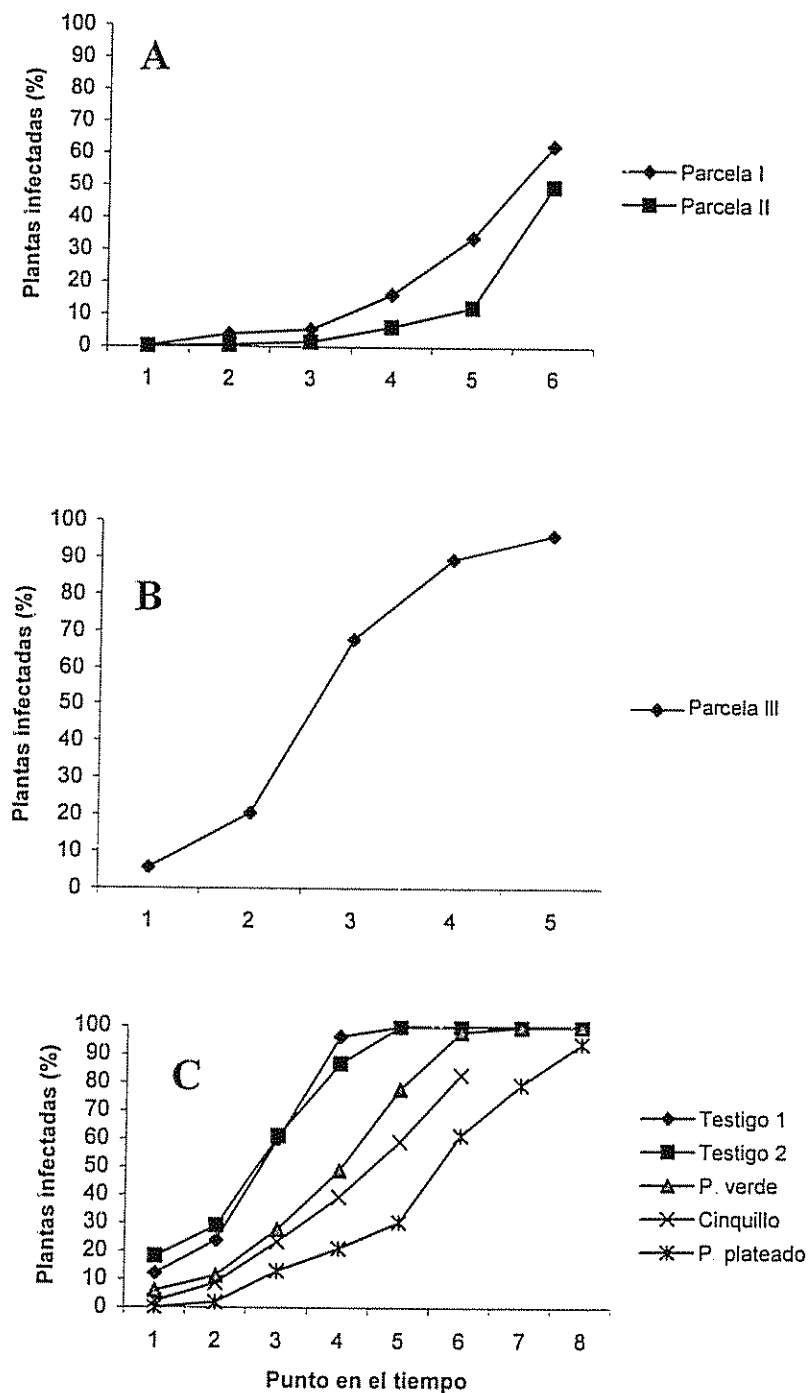


Figura 3. Porcentaje de plantas infectadas para cada punto en el tiempo, para las parcelas I y II (A), III (B) y de coberturas al suelo (C).

Al analizar la dispersión de la condición sanitaria de las plantas en función de su distancia con respecto a plantas infectadas previamente (*tn*), en parcelas I y II (Figs. 4A, B) la distancia máxima a la planta más próxima ya infectada fue de hasta unos 23 m, y hubo una tendencia muy alta a la aglomeración de plantas enfermas (valor 1 en la ordenada) cuando las distancias eran cortas, mientras que la presencia de plantas sanas (valor 0 en la ordenada), pareció más constante y tendió a aglomerarse en las distancias mayores. Para las parcelas III, ambos testigos y PV (Figs. 4C, D, E, G) la distancia máxima se redujo hasta unos 6 m; las plantas enfermas aparecieron más o menos distribuidas en un ámbito de 4 m y, de forma general, su aglomeración aumentó en función de la distancia. Para las parcelas CQ y PP (Figs. 4F, H) la distancia máxima fue de 11 y 14 m, respectivamente, con una aglomeración de plantas enfermas y una frecuencia menor de plantas infectadas cuando las distancias eran cortas; lo contrario ocurrió al aumentar la distancia.

7.2.3 Análisis de regresión para cada punto en el tiempo

En la regresión logística, la “tasa de cambio” $[(e^{b_i}) - 1]$ representa la variación porcentual en el cociente de probabilidad de ocurrencia (CPO) (probabilidad de ocurrencia / probabilidad de no ocurrencia) cuando hay una variación unitaria de la variable independiente en consideración (“distancia”, “círculo”, etc.). En general, se espera una probabilidad de infección decreciendo en función de la distancia; lo cual significa que deberían resultar coeficientes b_i negativos. Para fines explicativos, se puede tomar el punto 2 en el tiempo para la parcela I (Fig. 5A) y decir que, para ese punto en el tiempo, el CPO de la enfermedad disminuye en 10% (valor alcanzado en la ordenada), cuando la distancia se incrementa en 1 m. En la misma figura, la curva “*p*” muestra la significancia de la regresión para cada punto en el tiempo, y se observa que existe significancia estadística para todos los puntos en el tiempo. En general, en dicha parcela se observó un efecto bien definido de la distancia sobre el CPO, el cual se acentuó conforme avanzó el tiempo (mayor número de plantas infectadas). Esto también se ve en Figura 4a, donde queda claro que nuevas infecciones ocurren más frecuentemente en distancias cortas a plantas ya infectadas.

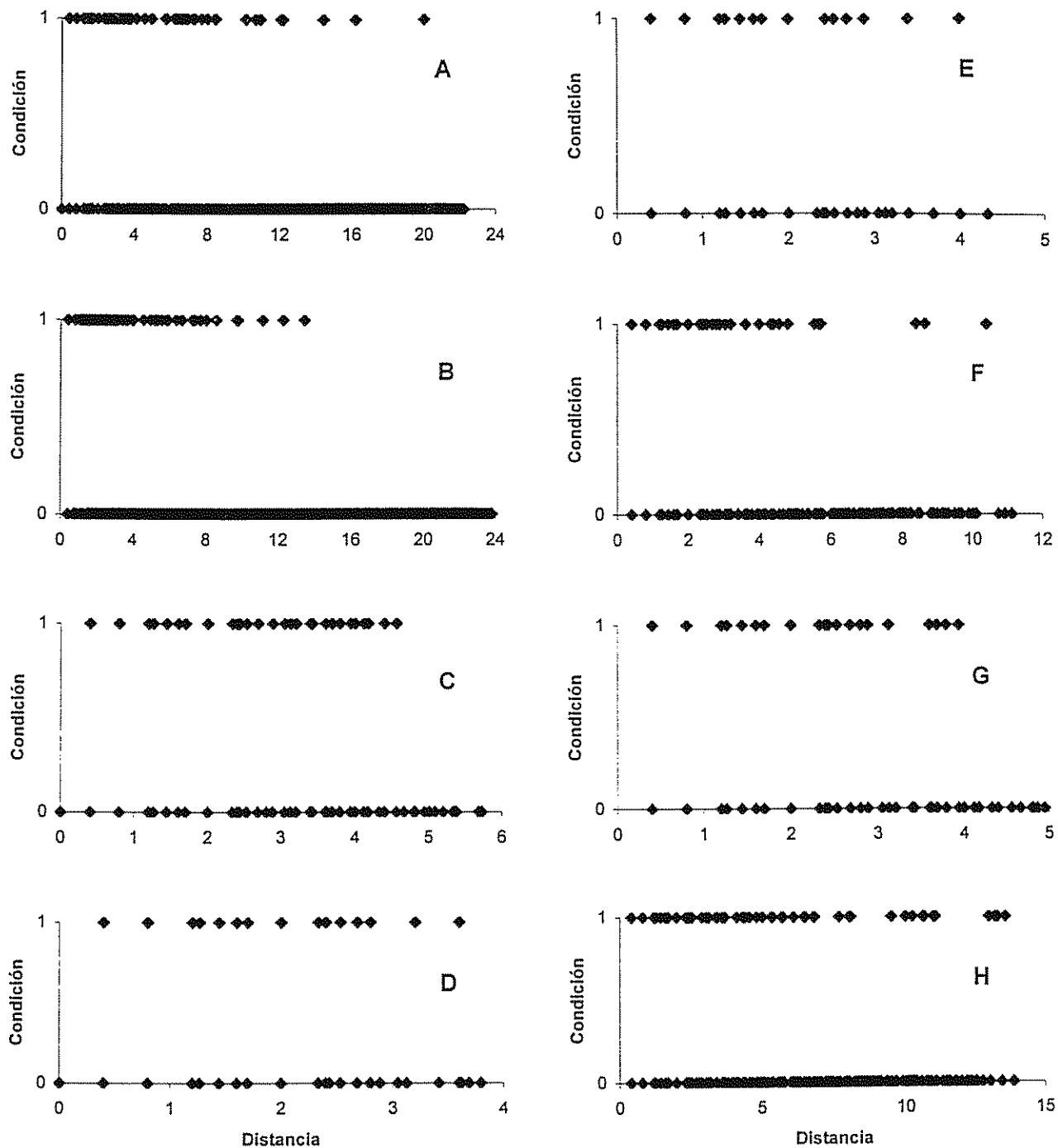


Figura 4. Dispersión de la condición sanitaria de las plantas en $tn+1$ (sana = 0, infectado = 1), en función de la distancia de éstas a plantas infectadas en tn , para las parcelas I(A), II (B), III(C), testigo 1 (D), testigo 2 (E), cinquillo (F), plástico verde (G) y plástico plateado (H).

En la parcela II (Fig. 5B) se observó un comportamiento menos definido para la "distancia", la cual tuvo un efecto significativo únicamente en el punto 4 en el tiempo, presentándose una reducción en la CPO cercano a 30% cuando la distancia se incrementó en 1 m. Para la parcela III (Fig. 5C) hubo un decremento gradual y significativo del CPO hasta el punto 4 y no hubo un efecto significativo para el punto 5. Para las parcelas testigos (Fig. 5D, E) no hubo un efecto bien definido de la "distancia" sobre el CPO, solo hubo significancia estadística en un punto (4 y 2, respectivamente). Sin embargo, todos los coeficientes encontrados negativos fueron significativos, y los que tuvieron valores positivos no lo fueron. Además, a pesar de que los recuentos de incidencia en estas parcelas se extendieron después de la 4ª semana (Fig. 3C), únicamente fue posible obtener estimados de los parámetros de la regresión hasta dicha semana, debido que a partir de este punto el porcentaje de plantas infectadas fue muy cercano o igual a 100%, lo cual creó un desbalance en los valores de la variable dependiente, e imposibilitó la estimación de tales parámetros (SAS 1991); lo anterior también ocurrió para los últimos puntos en el tiempo, en las parcelas PV y PP.

En las demás parcelas se observó la tendencia general a presentar un descenso porcentual del CPO para todos los puntos en el tiempo (casi todos los valores de $(e^{b_i}) - 1$ son negativos). Sin embargo, eventualmente hubo descensos del CPO menores que los de puntos anteriores en el tiempo (p. ej. puntos 4, 5 y 6, en parcelas CQ, PV, y PP, respectivamente), lo cual significa, en términos generales, que la ocurrencia de plantas nuevamente infectadas presentó un patrón de distribución menos aglomerado con respecto a las plantas ya infectadas en puntos anteriores en el tiempo. También, en algunos casos el cambio porcentual en el CPO tomó valores positivos, lo cual indica que para esos puntos en el tiempo, el incremento de la distancia en 1 m repercutió en un aumento porcentual del CPO igual al valor alcanzado por dicho parámetro en cada punto en el tiempo.

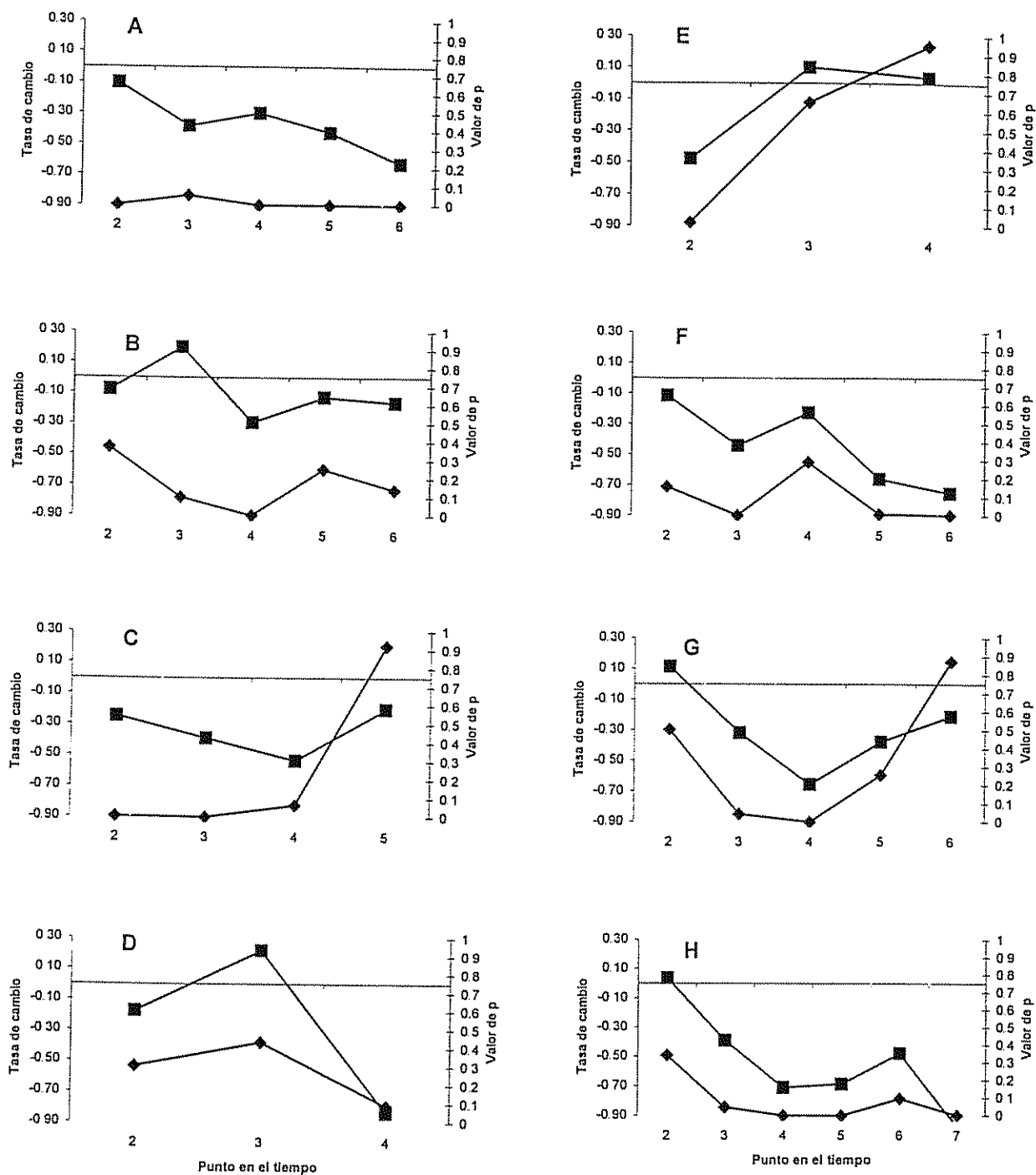


Figura 5. Valores de tasa de cambio porcentual (■) en el cociente de probabilidad de ocurrencia (CPO) del mosaico amarillo del tomate y los respectivos valores de significancia de la regresión (◆) para cada uno de los puntos en el tiempo, para la variable distancia, para las parcelas I (A), II (B), III (C), testigo 1 (D), testigo 2 (E), cinquillo (F), plástico verde (G), y plástico plateado (H).

el círculo se incrementó en una unidad, el CPO de la enfermedad aumentó en un porcentaje igual al valor alcanzado, en la ordenada, por dicho parámetro en cada punto en el tiempo. El comportamiento de esta variable a través del tiempo fue similar al de la distancia.

Las parcelas I, II y III no mostraron, en forma congruente, el efecto significativo del número de plantas infectadas en el círculo, sobre la probabilidad de ocurrencia de la infección (Fig. 6). Para la testigo 2, no se encontró efecto significativo del número de plantas infectadas en el círculo ($p > 0,10$); las parcelas CQ y PV mostraron un efecto significativo ($p < 0,05$) en la mayoría de los puntos y la parcela PP mostró un efecto altamente significativo para todos los puntos en el tiempo ($p < 0,01$).

Las distribuciones de frecuencia de ocurrencia de los distintos ángulos formados por la proyección vertical (del eje Y), para cada una de las plantas nuevamente infectadas y la planta más próxima ya infectada en puntos anteriores en el tiempo, aportan una idea clara de la dirección de diseminación de la enfermedad (Fig. 7). Las marcas de clase (punto medio de cada intervalo de clase) en las cuales se observó la mayor frecuencia correspondieron a 1,75 y 4,75 radianes, y dichos intervalos comprendieron los ángulos equivalentes a $\pi/2$ y $3\pi/2$ radianes. Todas las parcelas mostraron un patrón similar; en cada una de las barras de frecuencia se presenta la contribución relativa de cada punto en el tiempo sobre la definición de dicho patrón y se observó que la tendencia general se mantuvo. En la parcela II, además de la acumulación predominante de ángulos en las marcas de clase 1,75 y 4,75 radianes, también se observaron muchos ángulos en las marcas 0,25 y 3,25 radianes. En general, no hubo predominancia de ninguna de las dos marcas de clases más frecuentes y en todos los casos tendieron a presentar frecuencias similares, excepto en la parcela testigo 1 (Fig. 7D) en la cual, en el punto 4, la mayoría de los ángulos estuvieron comprendidos en la marca de clase 4,75 radianes.

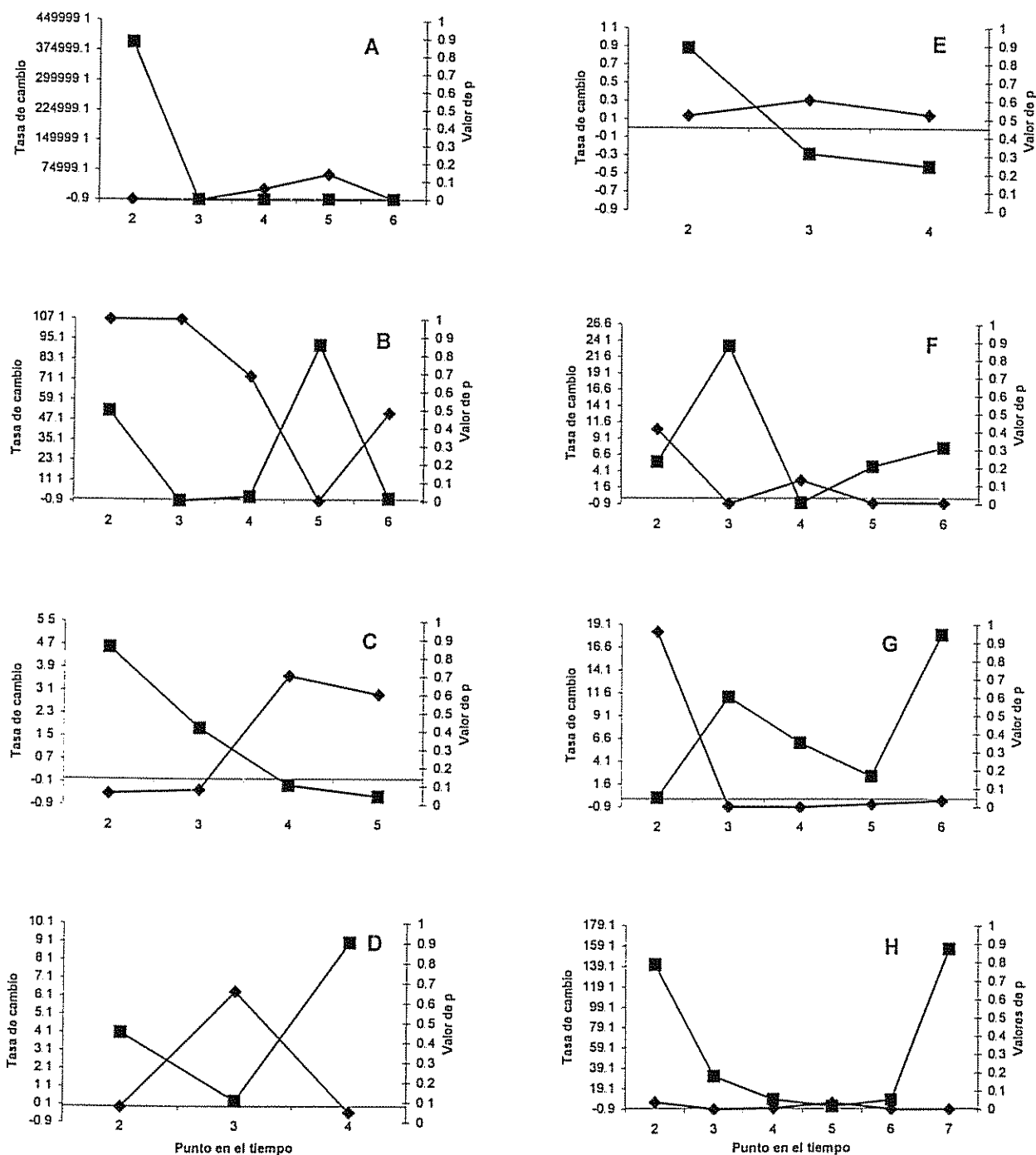


Figura 6. Valores de tasa de cambio porcentual (■) en el cociente de probabilidad de ocurrencia (CPO) del mosaico amarillo del tomate y los respectivos valores de significancia de la regresión (♦) para cada uno de los puntos en el tiempo, para la variable círculo, para las parcelas I (A), II (B), III (C), testigo 1 (D), testigo 2 (E), cinquillo (F), plástico verde (G), y plástico plateado (H).

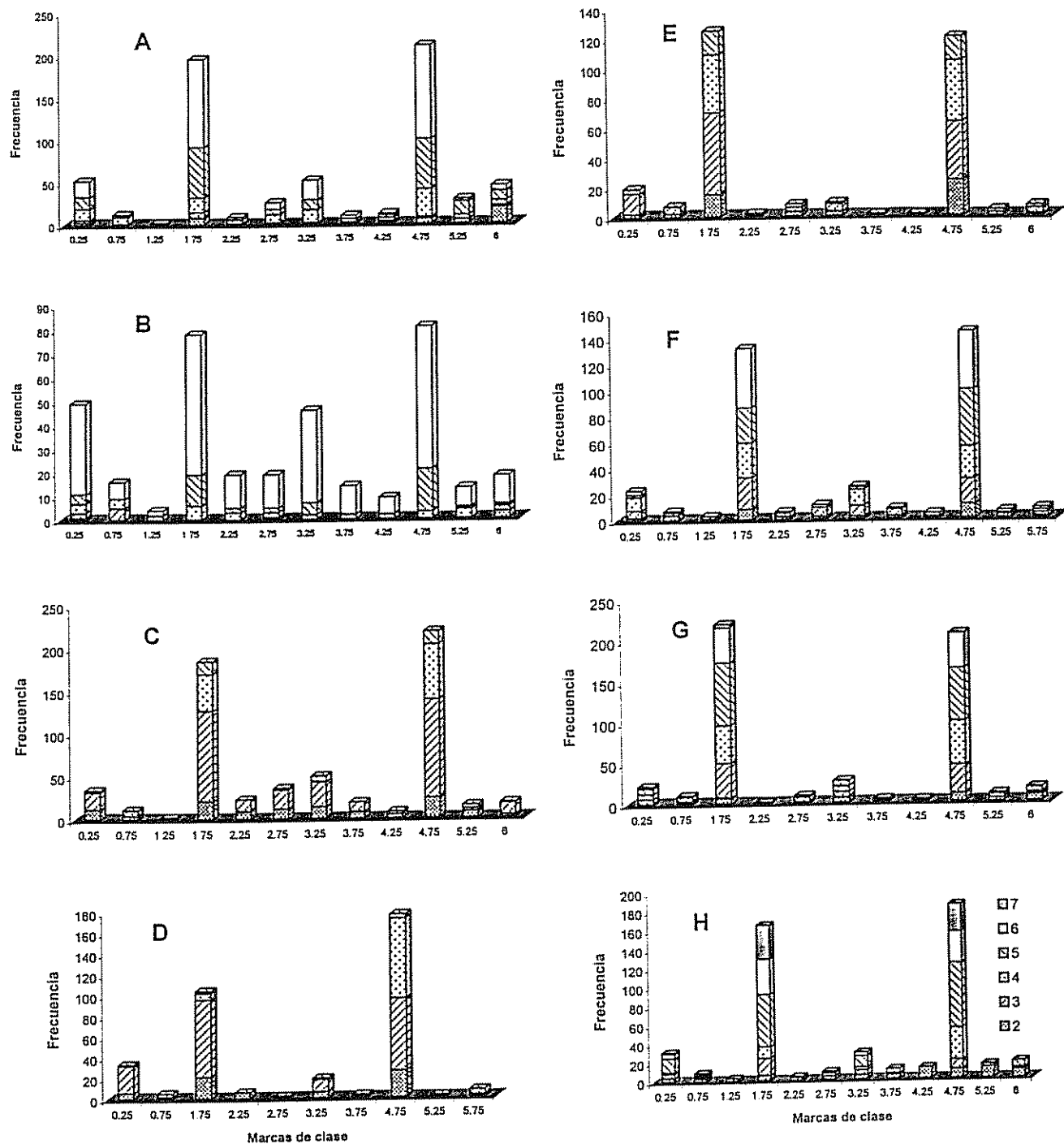


Figura 7. Frecuencias de ocurrencia de los diferentes ángulos, relativos a la dirección del eje Y, formados entre cada planta nuevamente infectada y la planta más próxima ya infectada en cualquier punto anterior en el tiempo, para las parcelas I (A), II (B), III (C), testigo 1 (D), testigo 2 (E), Cinquillo (F), plástico verde (G), y plástico plateado (H).

7.3 FUENTES DE INÓCULO DEL TOYMV-CR

No se detectó el ToYMV-CR en ninguna de las 18 especies de plantas recolectadas, pero en cuatro (*Melampodium perfoliatum*, *Cucumis sativus*, *Solanum nigrum* y *Sida rhombifolia*) apareció un geminivirus no identificado (cuadro 6), detectado mediante una sonda universal. Una evidencia de la veracidad y eficiencia de la técnica de hibridación fue que, al incluir un control positivo (tejido liofilizado de plantas de tomate, en los cuales se había amplificado el ToYMV-CR mediante la técnica de PCR) y uno negativo (tejidos liofilizados de plantas de tomate, sin el geminivirus), se obtuvo la respuesta esperada.

Cuadro 6. Especies de posibles plantas hospedantes del ToYMV-CR recolectadas, y su respectiva señal de detección.

Código	Nombre científico	Familia	Nombre común	Criterio		GV
				B.t.	S	
Cultivos						
C1	<i>Capsicum annuum</i>	Malvaceae	Chile dulce	+	+	-
C2	<i>Cucurbita moschata</i>	Cucurbitaceae	Ayote	+	+	-
C3	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Leguminosae	Vainica	+	+	-
C4	<i>Cucumis sativus</i>	Cucurbitaceae	Pepino	+	+	+
Malezas						
C5	<i>Drymaria cordata</i>	Caryophyllaceae	Cinquillo	+	+	-
C6	<i>Ageratum conyzoides</i>	Compositae	Santa Lucía	-	+	-
C7	<i>Galinsoga parviflora</i>	Compositae	Mielcilla	+	+	-
C8	<i>Melampodium perfoliatum</i>	Compositae	Flor amarilla	+	+	+
C9	<i>Melanthera aspera</i>	Compositae	Botoncillo	+	-	-
C10	<i>Spermacoce latifolia</i>	Rubiaceae	Chiquizacillo	+	-	-
C11	<i>Spananthe paniculata</i>	Apiaceae	Carricillo	+	+	-
C12	<i>Hemidiodia</i> sp.	Rubiaceae	Chiquizacillo	+	+	-
C13	<i>Sida</i> sp.	Malvaceae	Escobilla	+	+	+
C14	<i>Commelina diffusa</i>	Commelinaceae	Suelda	+	-	-
C15	<i>Solanum nigrum</i>	Solanaceae	Hierba mora	+	+	+
C16	<i>Hyptis capitata</i>	Labiatae	Botoncillo	-	+	-
C17	<i>Bidens pilosa</i>	Compositae	Moriseco	+	+	-
C18	<i>Cuphea carthagenensis</i>	Lythraceae	Moradita	+	+	-

B.t. = Presencia de adultos o ninfas de *B. tabaci*; S = Síntomas aparentes de virosis; GV = ++ (presencia del ToYMV-CR), + (presencia de otro geminivirus), - (sin geminivirus).

Se encontraron 16 especies de plantas hospedantes de ninfas o adultos de *B. tabaci* (Cuadro 6), observándose con mayor frecuencia en *P. vulgaris*, *Drymaria cordata*, *C. annuum*, *S. latifolia*, *C. sativus* y *Hemidiodia* sp., respectivamente. La identificación de dichos insectos se realizó a partir de ninfas del cuarto instar, en base a una clave de campo (Caballero 1994), y los adultos encontrados en los alrededores de parcelas de tomate fueron considerados como *B. tabaci*.

En ninguna de las especies que se inocularon en el invernadero se halló el ToYMV-CR, aunque en el chile dulce se encontró un geminivirus no identificado (Cuadro 7). En las plantas inoculadas de chile dulce y vainica se hallaron ninfas de *B. tabaci*, 15 días después de la inoculación.

Cuadro 7. Especies de plantas inoculadas con geminivirus en el invernadero, y su respectiva señal de detección

Código	Nombre científico	Familia	Nombre común	Geminivirus
I1	<i>Spananthe paniculata</i>	Apiaceae	Carricillo	-
I2	<i>Hemidiodia</i> sp.	Rubiaceae	Chiquizacillo	-
I3	<i>Spermacoce latifolia</i>	Rubiaceae	Chiquizacillo	-
I4	<i>Capsicum annuum</i>	Solanaceae	Chile dulce	+
I5	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Leguminosae	Vainica	-

GV = ++ (presencia del ToYMV), + (presencia de otro geminivirus), - (sin geminivirus).

En los 21 campos muestreados, las malezas en las cuales se encontró el geminivirus no identificado presentaron una abundancia relativa muy baja con respecto al resto de malezas (Fig. 8); ello justifica que ninguna aparezca citada directamente, sino dentro de la categoría "Otras", que agrupa a las malezas de menor incidencia. Por otra parte, las especies de malezas catalogadas como hospedantes predominantes de *B. tabaci* (*D. cordata*, *S. latifolia* y *Hemidiodia* sp.) mostraron una abundancia relativa muy alta.

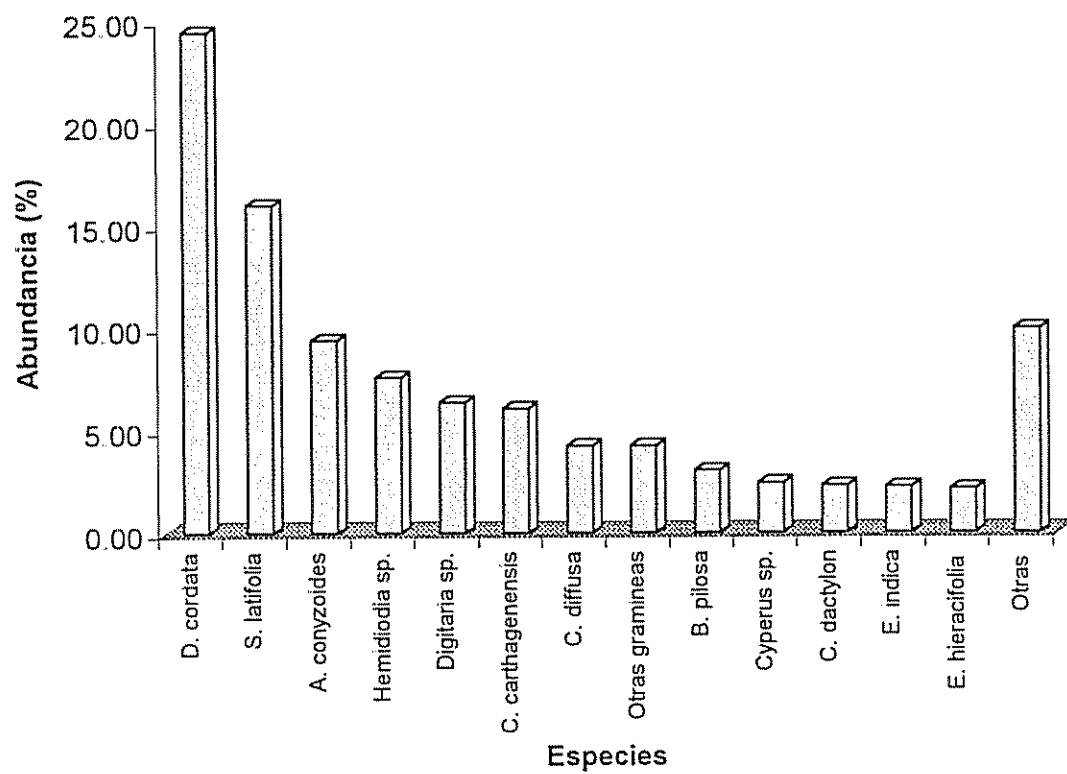


Figura 8. Abundancia relativa porcentual de las principales especies de malezas encontradas en la zona de estudio.

8. DISCUSIÓN

Movimientos diarios. Para conocer la influencia de las diferentes variables climáticas sobre los patrones de movimiento de *B. tabaci*, se realizaron análisis de correlación entre éstas y los números de adultos inmigrantes y repoblando las plantas muestreadas. Aunque el análisis de correlación, como una medida de la asociación lineal existente entre dos variables, no establece una relación de causalidad (Guharati 1994), en este caso interesa conocer la influencia de dichas variables climáticas sobre los patrones de movimiento de *B. tabaci* y no el sentido inverso de dicha relación; por ello, la interpretación de los resultados se realizará en ese sentido.

El efecto de las variables climáticas sobre los patrones de movimiento de *B. tabaci* no fue congruente en ninguna de las parcelas estudiadas. La heterogeneidad en la composición florística de los alrededores de cada parcela es un factor que explica, en gran medida, la ausencia de un patrón definido, como se discute a continuación.

La correlación entre la dirección del viento y la orientación de las trampas que registraron mayores capturas, se asumió como un indicador de la influencia del viento en el desplazamiento de *B. tabaci*, entre campos de cultivo o malezas. La utilización de trampas adhesivas es la técnica más común para estimar la abundancia de adultos en el campo (Ekbon y Rumei 1990). La ausencia de tal correlación en las parcelas I y III (Cuadro 3), las cuales fueron establecidas en el mismo campo pero en fechas diferentes, podría estar relacionada con el tipo de vegetación presente en la dirección prevalente del viento (NE), que fue de plantaciones de café con macadamia, por lo que hubo una baja asociación de éste con la dirección prevalente de la inmigración de *B. tabaci* hacia la parcela. Para la parcela II, en la cual hubo una correlación positiva, la situación fue diferente, ya que la parcela estaba en un terreno con mayor exposición al viento y menos vegetación alta en las proximidades. En el costado NE había una hondonada (en la dirección prevalente del viento), lo cual expuso la parcela directamente; las plantaciones de café y poró ubicadas en ese costado no interfirieron con la circulación normal del viento. Tal resultado es más concordante con lo informado en la literatura, pues se ha documentado que *B. tabaci* posee

una limitada capacidad para el vuelo dirigido y que es transportada en forma pasiva por el viento (Gerling y Horowitz 1984, Byrne *et al.* 1990, van Lenteren y Noldus 1990, Guharay 1994, Byrne y Blackmer 1996). Arias y Hilje (1993) encontraron mayores índices de inmigración en la dirección prevalente del viento y mayor emigración en la dirección contraria, en un estudio realizado en Alajuela, Costa Rica.

Las bajas densidades de adultos de *B. tabaci* en la primera fase de este estudio (parcelas I y II, Figs. 2A, B), posiblemente dificultaron la detección de tendencias que se observaron cuando las densidades fueron mayores, como en la parcela III (Fig. 2C). Es decir, que el efecto de las variables climáticas se manifestó más claramente en esta parcela, por lo que dichas tendencias quizás son más representativas del comportamiento de *B. tabaci*.

La velocidad del viento no afectó el total de adultos inmigrantes en ninguna de las parcelas. En realidad, las velocidades promedio siempre fueron muy bajas ($\approx 0.8 \pm 0.48$ m/seg), lo cual quizás impidió evaluar su efecto en forma adecuada. Además, las bajas densidades de adultos de *B. tabaci* observadas, especialmente en las parcelas I y II, podrían haber dificultado el observar tendencias en ese sentido, las cuales quizás también fueron enmascaradas por la presencia de parcelas de tomate y chile dulce en el costado opuesto a la dirección prevalente del viento, que se encontraban en período de cosecha y tenían mayores densidades de adultos que las parcelas experimentales; en Costa Rica se ha documentado que el biotipo C se reproduce masivamente en chile dulce (Hilje *et al.* 1993). Por su parte, en la parcela III, a medida que se incrementó la velocidad del viento, el nivel de repoblación dentro de la parcela disminuyó. Puesto que no se observó correlación entre la inmigración y dicha velocidad, no parece lógico pensar que el viento arrastre los adultos hacia fuera de la parcela, sino más bien que éstos tienden a refugiarse bajo el dosel del cultivo cuando el viento es más fuerte.

La mayoría de la información acerca de la actividad de vuelo de *B. tabaci* ha sido generada en los Estados Unidos, principalmente en los cultivos de melón y algodón (Byrne *et al.* 1990, Byrne y Blackmer 1996), y posiblemente, en campos de grandes extensiones, el comportamiento de vuelo de *B. tabaci* difiere del observado en pequeñas parcelas de tomate

rodeadas por café, en “mosaicos” de cultivos con otras hortalizas, frijol, vainica, etc, la cual es una situación frecuente en Costa Rica.

La temperatura tuvo efecto sobre el total de adultos inmigrantes solamente en la parcela III, en la cual se observó que a medida que la temperatura aumentó, se incrementó el número de inmigrantes (Cuadro 2). Hubo correlación inversa con la humedad relativa, por lo que cuando hubo alta humedad relativa y baja temperatura la cantidad de inmigrantes descendió. Dados los frecuentes episodios de lluvia en la zona, durante los cuales se cumplen ambas condiciones, es obvia la influencia de éstos sobre la reducción en la actividad de vuelo de los adultos hacia la parcela. En California, Bellows *et al.* (1988) en varios cultivos, determinaron una fuerte correlación positiva entre la temperatura y el número de adultos capturados durante el día; sin embargo, no la encontraron con la humedad relativa. Arias y Hilje (1993) determinaron una correlación inversa entre la actividad de vuelo y la temperatura.

La inmigración de adultos al inicio de la mañana fue baja en todas las parcelas, pero alcanzó el máximo a media mañana; además, hubo un segundo pico durante la tarde. Hubo un mínimo entre las 12 y 14 h, cuando la temperatura era más alta, la cual influyó en el número de inmigrantes en la parcela III (Cuadro 2). Análogamente, Arias y Hilje (1993) encontraron dos picos de mayor inmigración, el primero cerca de las 9 h y otro menor como a las 14 h, con un marcado descenso cerca del mediodía; Espino *et al.* (1993) obtuvieron resultados similares, en Nicaragua.

La repoblación de las plantas de tomate fue continua durante el día (Fig. 2). El número de insectos posados sobre las plantas a las 6 h no puede considerarse como un indicador de repoblación, pues representa el total de adultos acumulados en el período comprendido entre dos muestreos; por lo tanto, la repoblación debe ser considerada a partir de las 8 h. A esa hora se observó el mayor nivel de repoblación, lo cual posiblemente resulta de la mayor actividad de vuelo a horas tempranas (Byrne y Houck 1989, Anderson 1993, Arias y Hilje 1993). Además, se ha documentado la existencia de dos morfos de *B. tabaci* (Byrne y Houck 1989), uno migratorio y otro que efectúa vuelos de corta distancia. Es posible que

ese patrón de vuelo obedezca a un ritmo circadiano, como se ha sugerido para otras actividades de *B. tabaci*, como la emergencia de los adultos (Byrne y Bellows 1991). Con base en lo anterior se podría hipotetizar que por la mañana, el morfo migratorio emprende el vuelo hacia fuera de la parcela y el morfo de vuelo corto incrementa su actividad dentro de ésta, lo cual explicaría la actividad de repoblación tan temprana. Esta declinó hacia el mediodía, al aumentar la temperatura. Arias y Hilje (1993) también encontraron un efecto negativo de la temperatura sobre la actividad de vuelo dentro de la parcela. Luego se alcanzó un nuevo pico muy poco pronunciado hacia las 14 h, declinando hacia el final de la tarde.

El hecho de no eliminar los adultos de *B. tabaci* en las plantas muestreadas, podría haber incidido en los niveles de repoblación observados, puesto que los insectos ahuyentados podrían eventualmente retornar a las plantas de origen. Sin embargo, aunque el método ideal parece ser la eliminación de dichos insectos, la decisión de solo ahuyentarlos obedeció a las bajas densidades registradas en el campo. No obstante, Espino *et al.* (1993) eliminaron los adultos de cada planta después de realizar el muestreo y obtuvieron resultados similares a los del presente estudio.

La repoblación fue el resultado, principalmente, de los movimientos del insecto dentro de la parcela y se presentaron durante todo el período diurno (Fig. 2). La variación en el número de adultos repoblando las plantas dependió parcialmente del número de inmigrantes, al menos en las parcelas II y III (Cuadro 4). Aunque la correlación fue significativa, el coeficiente no fue muy alto, lo cual significa que un porcentaje relativamente bajo de los adultos que estaban repoblando las plantas eran inmigrantes. Una evidencia complementaria es la ausencia de correlación entre dichas variables en la parcela I, donde la repoblación no se explica siquiera en forma parcial por los niveles de inmigración registrados.

La correlación entre las variables "inmigrantes" y "repoblación" por cuadrante proporciona, de forma indirecta, información concerniente a la distancia de los vuelos realizados por *B. tabaci* dentro de la parcela; dicho análisis solo es relevante para aquellos casos en que se

encontró correlación entre dichas variables en toda la parcela. En la parcela II no hubo correlación entre dichas variables, pero sí la hubo para la parcela III, en la cual fue positiva y altamente significativa ($p < 0,01$). Es decir, el número de adultos ingresando en cada cuadrante de la parcela fue proporcional al número de los que se encontraban repoblando las plantas en dicho cuadrante, lo cual sugiere que, después del ingreso a la parcela, los vuelos realizados por *B. tabaci* fueron de muy corta distancia, pues no trascendieron en forma significativa los límites teóricos del cuadrante en que se encontraban.

Fuentes de inóculo del ToYMV-CR. En ninguna de las muestras de malezas ni de otros cultivos recolectados (vainica, chile dulce y cucurbitáceas) se encontró el ToYMV-CR, lo cual indica no son un reservorio de dicho geminivirus, al menos para el muestreo realizado, que fue amplio, pues abarcó 21 campos distribuidos en Guayabo y zonas aledañas, durante 10 meses. La amplitud espacial y temporal del muestreo ofreció la posibilidad de obtener muestras de los cultivos que son sembrados en diferentes épocas del año, así como de malezas anuales que aparecen en determinadas épocas. Para el geminivirus del moteado del tomate (TMoV), en Florida, y para el virus del mosaico africano de la yuca (ACMV), en Africa, se han hallado muy pocos hospedantes alternos y se considera que la principal fuente de inóculo para que ocurran nuevas infecciones son las parcelas de tomate y yuca, respectivamente, previamente infectadas (Fargette *et al.* 1990, Polston *et al.* 1996). Los resultados obtenidos sugieren que una situación similar ocurre con el ToYMV-CR en la zona de Guayabo. No obstante, para algunos geminivirus como el TYLCV, cuyo ámbito de hospedantes es amplio, la mayoría de sus hospedantes silvestres no presentan síntomas (Polston *et al.* 1994) y dado que la recolecta se realizó con base en la presencia de *B. tabaci* o síntomas, una planta virótica pero asintomática, y que en el momento de recolección no tuviera adultos o ninfas, no fue incluida, por lo que no debe descartarse la posibilidad que existan malezas hospedantes del ToYMV-CR, aún cuando no se detectaran en este estudio.

Aunque se detectó al menos un geminivirus diferente del ToYMV-CR, la frecuencia de las malezas en que se encontró fue muy baja, lo cual indica que en dicha zona las malezas no son hospedantes importantes de geminivirus; Rivas *et al.* (1995), en dos zonas de Costa Rica, también hallaron varias especies de malezas hospedantes de otros geminivirus. Sin

embargo, el hecho que muchas malezas se hayan encontrado hospedando a adultos o ninfas de *B. tabaci* podría ser un factor importante en la epidemiología de la enfermedad del mosaico amarillo, puesto que éstas se encuentran en un estrecho asocio con plantaciones de tomate y, por lo tanto, *B. tabaci* podría estarse reproduciendo en dichas malezas y manteniéndose cerca de la fuente de inóculo más importante de los geminivirus, que parecen ser las plantaciones viejas de tomate. La mayoría de dichas malezas han sido reportadas como hospedantes de *B. tabaci* en estudios anteriores (Arias y Hilje 1993, Guharay 1994, Valarezo y Cañarte 1995). En el invernadero, en el chile dulce también se encontró un geminivirus diferente al ToYMV-CR.

Diseminación local del mosaico amarillo. La probabilidad de una futura infección de plantas sanas dependió de la distancia que las separa de plantas infectadas. Al respecto, Ferrandino (1996) argumenta que el grado de aglomeración de una enfermedad depende de la distancia a la fuente de inóculo, así como de las variaciones físicas y agronómicas en el campo. El efecto de la "distancia" y "círculo" sobre la presencia de plantas nuevamente infectadas fue congruente en todas las parcelas, cuando se consideraron todos los puntos en el tiempo en un mismo modelo de regresión (Cuadro 5). Esto significa que la probabilidad de que una planta se infecte varía en función de la distancia entre ésta y la planta más próxima ya infectada en cualquier punto anterior en el tiempo, así como del número de plantas infectadas en un círculo de 0,99 m de radio. El resultado anterior está referido al efecto de dichas variables sobre la probabilidad de infección en todos los puntos en el tiempo en los cuales se evaluó la incidencia de la enfermedad, y parece lógico que los últimos puntos en el tiempo, con la mayoría de las plantas infectadas, incidan en mayor grado en la significancia de dicha regresión, puesto que la distancia a la planta más próxima ya infectada tendió a reducirse. Por lo tanto, cada vez con mayor frecuencia, una distancia corta estuvo asociada con una condición de la planta de referencia, la cual en la mayoría de los casos se encontró infectada.

Análogamente, cuando el número de plantas infectadas en la parcela fue muy alto, la probabilidad de que el círculo tuviera su centro en una planta infectada fue cada vez mayor, y dicho valor estuvo asociado, cada vez con más frecuencia, a una proporción de plantas

infectadas dentro del círculo tendiente a 1, es decir, a valores muy parecidos entre sí. Además, ocurrieron pocos casos en que el círculo tuvo su centro en una planta sana, por lo que estos casos tuvieron un peso menor en la significancia del modelo para todos los puntos en el tiempo.

Al analizar la influencia de la "distancia" y el "círculo" para cada parcela y cada punto en el tiempo, se observó que, de forma general, en todas las parcelas hubo una aglomeración de plantas enfermas en las distancias cortas, y de plantas sanas cuando dichas distancias aumentaron (Fig. 4). Esto indica claramente el sentido en que la distancia a las plantas ya enfermas influyó en la aparición de nuevas infecciones. Es decir, en general, a medida que una planta sana estuvo más cerca de una planta infectada en el punto tn en el tiempo, en ese sentido aumentó la probabilidad de que dicha planta se enfermara en un punto $tn+1$ en el tiempo. Dicho resultado coincide con los vuelos de corta distancia de *B. tabaci* dentro de la parcela, sugerido por el análisis de correlación por cuadrante entre la "inmigración" y la "reproducción", puesto que si algunas plantas dentro de la parcela están infectadas en un punto en el tiempo y son visitadas por los adultos, éstos, por realizar vuelos cortos, probablemente infectarán a las plantas más cercanas a dichas plantas infectadas.

Las parcelas I y II (Figs. 4A, B), en las que la incidencia y la tasa de incremento de la enfermedad fueron menores que en el resto de las parcelas (Fig. 3) expresan en forma clara dicho patrón de aglomeración de plantas nuevamente infectadas en las distancias cortas. Sin embargo, se observaron distancias máximas de hasta 14 y 20 m entre dos plantas infectadas, en dos puntos sucesivos en el tiempo, en las parcelas II y I, respectivamente, lo cual podría explicarse por el posible ingreso de adultos virulíferos en la parcela, los cuales aterrizan y probablemente infectan plantas en un patrón que es completamente independiente de la existencia de plantas ya infectadas en dicho campo. Pero lo más importante de resaltar es que ello no es la generalidad, puesto que la mayoría de plantas se enferman cuando la distancia a las ya infectadas es menor.

El desarrollo de la enfermedad fue diferente para la parcela III, ambos testigos y el PV, pues su tasa de incremento mostró un patrón similar entre ellas y, además, muy acelerado

(Figs. 3B, C). Algunas explicaciones que podrían esclarecer la rápida diseminación de la enfermedad en dichas parcelas es, en el caso de los testigos y PV, que éstas se encontraban rodeados por tomate en dos de sus costados y, por lo tanto, estuvieron más expuestos al ingreso de adultos de *B. tabaci* (Anexo 2); además, es muy probable que una alta proporción de los adultos ingresando a dichas parcelas fueran virulíferos, puesto que quizás provenían de dichas parcelas, infectadas con el ToYMV-CR.

La parcela III, estuvo rodeada por dos parcelas senescentes de tomate, las cuales quizás actuaron como reservorios de *B. tabaci*, aportando una mayor cantidad de adultos inmigrantes virulíferos (Fig. 2C). Se ha documentado que los adultos dejan su habitat original como una respuesta al deterioro de su hospedante (Gerling y Horowitz 1984). Aún con el acelerado desarrollo de la enfermedad, se observó que a medida que la distancia se redujo el número de plantas sanas fue menor. Sin embargo, no hubo una tendencia muy clara de la aparición de plantas nuevamente infectadas en función de la distancia, y posiblemente esto sea el resultado de una mayor inmigración de adultos virulíferos que crearon nuevos focos de infección en diferentes puntos de la parcela, a partir de los cuales los adultos "residentes" crearon un sub-patrón de diseminación dependiente de la distancia a dichos focos. Tal sub-patrón podría estar contribuyendo fuertemente a la significancia de la regresión para todos los puntos en el tiempo en estas parcelas, puesto que cuando la incidencia de la enfermedad fue muy alta, dichos "parches" se fusionaron.

Las parcelas CQ y PP (Figs. 4F, H), en las que la tasa de incremento de la enfermedad fue intermedia con respecto a los dos grupos mencionados anteriormente, sí presentaron un efecto definido de la distancia, con una mayor aglomeración de plantas nuevamente infectadas en las distancias menores a las ya infectadas en puntos anteriores en el tiempo, así como una frecuencia menor de plantas sanas cuando la distancia de ellas a una ya infectada fue menor. Como se mencionó, estas parcelas rodearon al bloque de parcelas testigo 1, PV y testigo 2, por lo que solo uno de sus costados tenía exposición plena a los adultos de *B. tabaci* presentes en dichas parcelas intermedias y, por lo tanto, los movimientos dentro de la parcela determinaron en mayor grado el patrón de diseminación de la enfermedad, en función de la distancia a los focos iniciales de infección. Además,

fueron las parcelas más expuestas a la inmigración, pues se encontraban en los bordes del campo y ello es otra evidencia de que la diseminación del geminivirus dentro de la parcela está determinado principalmente por los movimientos internos del vector, entre plantas. Por el contrario en Africa, para el ACMV se determinó que la infección ocurre en mayor grado en los bordes expuestos al viento, lo cual sugiere la existencia de fuentes de inóculo externas a la parcela (Lecoustre *et al.* 1989).

Mediante la interpretación de los parámetros de la regresión logística, es posible cuantificar la magnitud de la influencia de dichas variables sobre el cociente de probabilidad de ocurrencia (CPO) de la enfermedad. Además, realizar un análisis por separado para cada punto en el tiempo permite observar la diseminación de la enfermedad a través del tiempo, en cada una de las parcelas estudiadas. En general, se observó que el incremento de la distancia en 1 m condiciona un decremento porcentual del CPO (Fig. 5), puesto que la “tasa de cambio” toma siempre valores negativos en los casos en que la “distancia” es significativa (Fig. 5); así solo se deben interpretar aquellos coeficientes que resulten significativos, ya que el resto carecen de sentido de interpretación, puesto que ocurren en forma aleatoria.

Cuando el efecto de la distancia es significativo, esto indica que al menos en ese punto en el tiempo la enfermedad se disemina en un ámbito corto y, por consiguiente, las plantas ya infectadas dentro de la parcela actúan como fuente de inóculo hacia las plantas aún sanas. Esta situación parece ser la generalidad en el desarrollo de la epidemia a través del tiempo, pero hay algunas situaciones en que el efecto de la distancia no es significativo, lo cual indica que las nuevas infecciones ocurren en forma estadísticamente independiente de la distancia a las plantas ya infectadas. Polston *et al.* (1996) no encontraron un patrón aglomerado de plantas infectadas por el TMOV, en Florida, utilizando el método “distance class analysis” (Gray *et al.* 1986) y más bien informan de la presencia de pequeños parches que coalescen para formar conglomerados mayores. El aumento de la inmigración de adultos virulíferos en determinados puntos en el tiempo podría estar provocando este patrón de diseminación independiente de la distancia a las plantas infectadas; no obstante, en todas

las parcelas (Cuadro 5), así como en la mayoría de los puntos en el tiempo, hubo efecto de la distancia sobre la probabilidad de infección (Fig. 5).

La relación entre el patrón de la enfermedad y el "círculo" es más difícil de interpretar. En general, en los puntos en el tiempo en que éste fue significativo, a medida que un mayor número de plantas dentro del círculo estaban infectadas, la tasa de cambio porcentual en el CPO aumentó; es decir, la probabilidad de que una planta sana se enfermara aumentó cuando sus vecinas a ambos lados en la hilera, estaban infectadas.

En las parcelas CQ, PV y PP (Figs. 6F, G, H) se presentó un efecto más congruente de dicha variable a través del tiempo. En los puntos en que la distancia tuvo un efecto significativo y el "círculo" no lo tuvo, podría ser que la diseminación ocurrió en un ámbito mayor a la distancia entre las cinco plantas contenidas en dicho círculo. Dado que este círculo solo contiene plantas que están ubicadas sobre la misma hilera, y dado la no significancia de círculos con radios mayores, parece ser que la diseminación ocurre dentro de la hilera, y que la mayoría de las veces *B. tabaci* se esté desplazando sobre ésta, planta por planta. En conclusión, un efecto significativo de un círculo que solo comprende cinco plantas alineadas dentro de una hilera, indica que la diseminación de la enfermedad se da principalmente dentro de ésta. Lo cual es congruente con el planteamiento de Ferrandino (1996), de que puesto que muchos cultivos agrícolas son plantados en hileras, está es una razón para creer que el contagio es dependiente de la dirección de éstas.

Puesto que no hubo un efecto significativo de las variables "ángulo relativo a la dirección del eje Y" y "ángulo relativo a la dirección prevalente del viento", es útil conocer si, dentro de las hileras, la enfermedad se disemina en una dirección prevalente o en ambas direcciones, en forma indistinta. Las distribuciones de frecuencia de ocurrencia de los distintos ángulos relativos a la dirección del eje "Y" mostraron que hay dos direcciones prevalentes de diseminación (Fig. 7). Asumiendo que la planta en la cual se está observando el estado de infección (planta de referencia) constituye el centro de un plano cartesiano, y que el ángulo que se está midiendo está entre la parte positiva del eje "Y" y el vector formado por dicha planta de referencia y la planta más próxima ya infectada en

cualquier punto anterior en el tiempo, todos los ángulos, medidos en radianes, estarán comprendidos entre 0 y 2π .

La frecuencia mayor de ángulos se concentró en las marcas de clase de 1,75 y 4,75 radianes, los cuales comprenden los ángulos $\pi/2$ y $3\pi/2$, que corresponden a partir de la parte positiva del eje "Y" en el plano cartesiano, exactamente a la dirección de las hileras dentro de la parcela (Fig. 9). Es decir, en la mayoría de los casos la planta más próxima ya infectada se encontraba en un ángulo de $\pi/2$ o $3\pi/2$ radianes, en la misma hilera que la planta de referencia. Puesto que no existen diferencias visibles entre ambas direcciones a través de las distintas parcelas, se concluye que la diseminación de la infección ocurre en las dos direcciones opuestas dentro de la hilera, lo cual justifica la no significancia de la variable "ángulo relativo al eje Y". Otra acumulación menor de ángulos se encontró en las clases 0,25 y 3,25 radianes, en las cuales se enmarcan los ángulos π y 2π , que corresponden a la dirección del eje "Y". Dado que la variable "ángulo" presenta una distribución circular, al "doblar" el eje "X" hasta conformar un círculo, se observa que la mayoría de las plantas infectadas caen dentro del surco y, con una frecuencia menor, ocurrieron nuevas infecciones cuando plantas en la hilera vecina se encontraban infectadas.

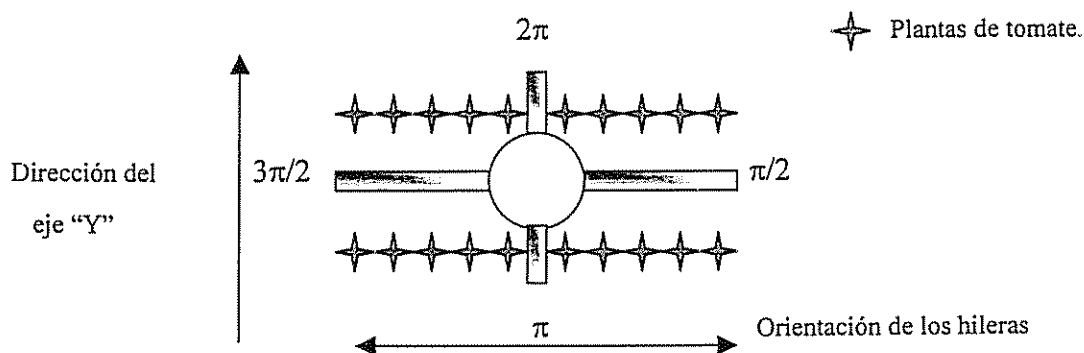


Figura 9. Representación teórica de los ángulos prevalentes en la distribución circular.

Un caso particular ocurrió en la parcela II, donde hubo mayor acumulación de ángulos en las clases 0,25 y 3,25 radianes. Lo anterior se debió a que dadas las características topográficas de la parcela (existencia de una pendiente pronunciada en uno de los costados), algunos de los surcos fueron orientados en sentido perpendicular a los demás, es

decir, en el mismo sentido del eje "Y" (Anexo 4). Por lo tanto, cuando la planta más próxima ya infectada se encontraba en el mismo surco de la planta de referencia, éstas formaban un ángulo de 0 o π radianes con la parte positiva del eje "Y" en el plano cartesiano, y dichos ángulos aparecen representados en las clases de 0,25 y 3,25 radianes, respectivamente. Esta es una evidencia complementaria de que la diseminación de la enfermedad ocurre, en forma prevalente, dentro de las hileras y, por lo tanto, las plantas enfermas dentro de la parcela, en un punto dado en el tiempo, constituyen la fuente de inóculo más importante para que nuevas plantas se enfermen.

Síntesis. Puesto que no se encontraron hospedantes alternos del ToYMV-CR, la fuente de inóculo más importante del geminivirus para la diseminación local de la epidemia serían los focos iniciales de infección dentro de la parcela, los cuales son creados por los adultos virulíferos que llegan en las etapas iniciales de desarrollo del cultivo, posiblemente provenientes de parcelas viejas de tomate. Posteriormente al establecimiento de *B. tabaci* en la parcela, los movimientos de corta distancia del vector, que son continuos durante el día, explican la influencia de la distancia en la diseminación de la epidemia.

Para el manejo del complejo *B. tabaci*-geminivirus, los resultados de esta investigación sugieren que no se justifica la inversión de recursos en el control de malezas en los alrededores de parcelas de tomate, pues no se encontraron hospedantes alternos del ToYMV-CR. Además, el uso de semilleros protegidos con malla fina (Cubillo *et al.* 1994) parece una práctica de gran importancia para evitar los focos iniciales de infección dentro de las parcelas. Para reducir las fuentes de inóculo al establecer nuevas parcelas de tomate, deben considerarse los esquemas temporales de plantación de los cultivos viejos de tomate, chile dulce, cucurbitáceas, vainica y frijol, los cuales actúan como reservorios de *B. tabaci*.

También se observó que las parcelas con vegetación alta en los alrededores presentaron un menor índice de inmigración del vector, lo cual sugiere que la utilización de barreras vivas como el maíz o el pasto elefante (*Pennisetum purpureum*) en la dirección contraria al viento (Salguero 1993) podrían reducir la abundancia del vector e impedir o retardar el establecimiento de estos focos iniciales de infección que, al parecer, son los más

importantes. Las coberturas al suelo, inertes o vivas, son otra medida promisorias para reducir la inmigración de adultos, pues se cree que estas causan un efecto de repelencia o de enmascaramiento del cultivo (Cubillo *et al.* 1997). Finalmente, la aplicación racional de productos agroquímicos sistémicos y específicos para el control de *B. tabaci* durante las primeras etapas del cultivo, podrían disminuir el establecimiento de los focos iniciales de infección.

10. CONCLUSIONES

- La inmigración de adultos de *B. tabaci* hacia las parcelas de tomate, así como la repoblación de las plantas muestreadas, fueron continuas durante el día, y la causa principal de la repoblación fueron los movimientos cortos del insecto dentro de la parcela.
- El patrón de diseminación del mosaico amarillo del tomate dependió de los focos iniciales de infección dentro de la parcela y se explica por los patrones de movimientos cortos del vector.
- No se encontraron hospedantes alternos, silvestres o cultivados, del geminivirus del mosaico amarillo del tomate (ToYMV-CR).
- El contagio de plantas dentro de la parcela ocurrió principalmente dentro de las hileras.
- El método de regresión logística puede ser aplicado para establecer relaciones de causalidad entre la incidencia de una enfermedad en el campo y los atributos espaciales que caracterizan a dicha infección.

10. RECOMENDACIONES

- Efectuar estudios análogos en parcelas más grandes y en situaciones con mayores densidades del vector, para conocer si los patrones detectados se mantienen.
- Eliminar los adultos capturados en las plantas en futuros estudios de los patrones de movimiento de *B. tabaci*, siempre que las densidades lo permitan.
- Utilizar nitrógeno líquido en la recolección de muestras en el campo y, posteriormente, la liofilización inmediata de dichas muestras, una vez en el laboratorio, ya que la oxidación de polifenoles en las muestras de malezas recolectadas puede ser muy rápida para algunas especies, lo cual causa degradación de los ácidos nucleicos y afecta la detección de geminivirus.

11. REFERENCIAS

- ABISGOLD, J.D.; FISHPOOL, D.C. 1990. A method for estimating population sizes of whitefly nymphs (*Bemisia tabaci* Genn.) on cassava. *Trop. Pest Manage.* 36(3):287-292.
- ANDERSON, P. K. 1993. Un modelo para la investigación en mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius). In L. Hilje y O. Arboleda (eds.). Las moscas blancas (Homoptera : Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. CATIE. Turrialba, Costa Rica. Serie Técnica. Informe Técnico No. 205. p. 27-31.
- ARIAS, R.; HILJE, L. 1993. Actividad diaria de los adultos de *Bemisia tabaci* (Gennadius) en el tomate y hospedantes alternos del insecto. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 28:20-25.
- BEDFORD, I. D.; BRIDDON, R.W.; BROWN, J.K.; ROSELL, R.C. ; MARKHAM, P.G. 1994. Geminivirus transmission and biological characterisation of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes from different geographic regions. *Ann. appl. Biol.* 125(2):311-325.
- BELLOWS, T.S., Jr.; PERRING, T.M.; ARAKAWA, K.; FARRAR, C.F. 1988. Patterns in diel flight activity of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) in cropping systems in Southern California. *Environ. Entomol.* 17(2):225-228.
- _____; PERRING, T.M.; GILL, R.J.; HEADRICK, D.H. 1994. Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 87: 195-206.
- BERLINGER, M.J. 1984. Host plant resistance to *Bemisia tabaci*. *Agric. Ecosyst. Environ.* 17(1-2):69-82.
- BLACKMER, J. L. y BYRNE, D. N. 1993b. Flight behaviour of *Bemisia tabaci* in a vertical flight chamber. Effect of time of day, sex, age and host quality. *Physiological Entomology* 18:223-232.
- _____; BYRNE, D. N. 1993a. Environmental and physiological factors influencing phototactic flight of *Bemisia tabaci*. *Physiological Entomology* 18:336-342.
- BOCK, K.K. 1982. Geminivirus diseases. *Plant Dis.* 66(3):266-270.
- BONILLA, F. 1995. Período de adquisición, latencia y transmisión del geminivirus del tomate (*Lycopersicon esculentum*), por la mosca blanca (*Bemisia tabaci*). *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 35:11-13.

(1) BROWN, J. K. 1990. An update on the whitefly-transmitted geminiviruses in the Americas and the Caribbean Basin. *FAO Plant Prot. Bull.* 39(1):5-23.

BROWN, J. K. 1992. Biotypes of the sweetpotato whitefly: Current perspective. *Proceedings, Beltwide Cotton Conferences. Production Research National Cotton Council of America, Memphis, TN.* 2:665-670.

_____. 1993. Evaluación crítica sobre los biotipos de mosca blanca (Homoptera : Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. In L. Hilje y O. Arboleda (eds.). *Las moscas blancas (Homoptera : Aleyrodidae) en América Central y el Caribe.* CATIE. Turrialba, Costa Rica. Serie Técnica. Informe Técnico No 205. p. 1-9.

_____. 1994. Current status of *Bemisia tabaci* as a plant pest and virus vector in agroecosystems worldwide. *FAO Plant Prot. Bull.* 42(1-2): 3-32.

1) _____; BIRD, J. 1992. Whitefly-transmitted geminiviruses in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Dis.* 76(3):220-225.

_____; NELSON, M.R. 1988. Transmission, host range and vector relationship of chino del tomate virus (CdTV), a whitefly-transmitted geminivirus from Sinaloa. *Plant Dis.* 72(10):866-869.

1) _____; FROHLICH, D.R.; ROSELL, R.C. 1995a. The sweetpotato or silverleaf whitefly: Biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex?. *Ann. Rev. Entomol.* 40:511-534.

_____; BEDFORD, I.D.; BIRD, J.; COSTA, H.S.; FROHLICH, D.R.; MARKHAM, P.G. 1995b. Characterization and distribution of esterase electromorphs in the whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.) (Homoptera: Aleyrodidae). *Biochemical Genetics* 33:205-213.

BUNTIN, G.D.; GILBERTZ, D.A.; OETTING, R.D. 1993. Chlorophyll loss and gas exchange in tomato leaves after feeding injury by *Bemisia tabaci* (Homoptera : Aleyrodidae) *J. Econ. Entomol.* 86:517-522.

BYRNE, D. N.; BELLOWS, T. S. 1991. Whitefly biology. *Ann. Rev. Entomol.* 36:431-457.

_____; BLACKMER, J. L. 1996. Examination of short-range migration by *Bemisia*. In D. Gerling y R. T. Mayer (eds.). *Bemisa: 1995 Taxonomy, biology, damage, control and management.* Intercept. London. 702 p.

_____; HOUCK, M.A. 1990. Morphometric identification of wing polymorphism in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera : Aleyrodidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 83(3):487-493.

BYRNE, D. N.; BELLOWS, T. S.; PARRELA, M.P. 1990. Whiteflies in agricultural systems. In D. Gerling (ed.). Whiteflies: Their bionomics pest status and management. Great Britain Intercept, Andover, UK. p. 227-262.

_____ ; VON BRETZEL, P.K.; HOFFMAN, C.J. 1986. Impact of the trap design and placement when monitoring for the bandwinged whitefly and sweetpotato whitefly (Homoptera : Aleyrodidae). Environ. Entomol. 15: 300-304.

CABALLERO, R. 1994. Clave de campo para inmaduros de moscas blancas de Centroamérica (Homoptera: Aleyrodidae). Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. 4 p.

_____ ; PITTY, A. (eds.). 1995. Memoria IV Taller Latinoamericano sobre Moscas Blancas y Geminivirus. Ceiba (Honduras) 36 (1): 1-168.

_____ ; RUEDA, A. 1993. Las moscas blancas en Honduras. In L. Hilje y O. Arboleda (eds.). Las moscas blancas (Homoptera : Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. CATIE, Turrialba, Costa Rica. Serie técnica. Informe Técnico N° 205. p. 50-53.

CATIE/INTA-MIP 1996. Como implementar MIP en café con productores y técnicos: publicaciones diversas. Managua, Nicaragua.

COCK, M.J.W. (ed.) 1986. *Bemisia tabaci*- A literature survey on the cotton whitefly with an annotated bibliography. CAB International Institute of Biological Control, Ascot, UK. 121 p.

COHEN, S.; KERN, J. HERDAZ, I.; BEN-JOSEPH, R. 1988. Epidemiological studies of the tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) in the Jordan Valley, Israel. Phytoparasitica 16(3): 259-270.

COMISION NACIONAL DE MOSCA BLANCA. 1993. Las moscas blancas en Nicaragua. In L. Hilje y O. Arboleda (eds.). Las moscas blancas (Homoptera : Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. CATIE, Turrialba, Costa Rica. Serie Técnica. Informe Técnico No 205. p. 54-57.

COSTA, H. S.; JOHNSON, M. W.; ULLMAN, D. E.; OMER, A. D.; TABASHNIK, B. E. 1993. Sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae): Analysis of biotypes and distribution in Hawaii. Environ. Entomol. 22:16-20.

CUBILLO, D.; HILJE, L.; CHACON, A. 1994. Producción de plántulas de tomate sin geminivirus transmitidos por la mosca blanca (*Bemisia tabaci*). Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 34:23-27.

CUBILLO, D.; SANABRIA, G.; HILJE, L. 1997. Disminución de la severidad del mosaico amarillo del tomate mediante coberturas al suelo. In III Semana Científica. CATIE. 1997. p 44-47.

DeBARRO, P. J. 1995. *Bemisia tabaci* biotype B: A review of its biology, distribution and control. CSIRO, Div. Entomol. Tech. Paper 33:1-57.

OK ✓
DUBON, R.E.; SALGUERO, V.E. 1993. Evaluación de diferentes trampas amarillas para mosca blanca en tomate. In V. Salguero, D. Dardón y R. Fisher (eds.). Manejo Integrado de Plagas en Tomate. Fase I 1991-1992. Proyecto MIP-ICTA-CATIE-ARF. Guatemala. p. 52-74.

OK ✓
EKBOM, B.S.; RUMEL, X. 1990. Sampling and spatial patterns of whiteflies. In D. Gerling (ed.). Whiteflies: Their bionomics, pest status and management. Intercept. p. 107-121.

ERLICH, H.A. (ed.). 1989. PCR. Technology: Principles and applications for DNA amplification. New York, Stodgton. 246 p.

ESPINO, C.; RIVAS, I.; GOMEZ, D.; GUHARAY, F. 1993. Movimiento local de mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en el campo de tomate, en el valle de Sébaco. In Memoria Taller Interno sobre el Cultivo de Tomate. Grupo Interinstitucional de Tomate. Managua, Nicaragua. p. 11-12.

FARGETTE, D.; FAUQUET, C.; GRENIER, E.; TARESH, J. M. 1990. The spread of African cassava mosaic virus into and within cassava fields. J. Phytopathol. 130:289-302.

FERRANDINO, F. J. 1996. Two-dimensional distance class analysis of disease-incidence data: Problems and possible solutions. Phytopathology 86 (7): 685-691.

_____. 1997. Past non-randomness and aggregation to spatial correlation: 2D CORR, a new approach for discrete data. Phytopathology 87. (En prensa).

OK ✓
FISHPOOL, L.D.C. ; BURBAN, C. 1994. *Bemisia tabaci*: The whitefly vector of african cassava mosaic geminivirus. Trop. Sci. 34(1):55-72.

GERLING, D. (ed.). 1990. Whiteflies: Their bionomics, pest status and management. New Castle, UK. Atheneum Press. 348 p.

_____; HOROWITZ, H. R. 1984. Yellow traps for evaluating the population levels and dispersal patterns of *B. tabaci* (Gennadius) (Homoptera : Aleyrodidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 77(6):753-759.

GERLING, D.; MAYER, R.T. (eds.). 1996. *Bemisia* 1995. Taxonomy, biology, damage, control and management. Intercept, United Kingdom. 702 p.

GRAY, S. M.; MOYER, J.W.; BLOOMFIELD, P. 1986. Two dimensional distance class model for quantitative description of virus-infected plant distribution tactics. *Phytopathology* 76(2):243-248.

5 GREATHEAD, A.H. 1992. Host plants. In Cock, M.J.W. (ed.). *Bemisia tabaci* - A literature survey on the cotton whitefly with an annotated bibliography. CAB International Institute of Biological Control, Ascot, UK. p. 17-25.

GUHARATI, D. N. 1994. *Econometría*. McGraw-Hill. México. 597 p.

GUHARAY, F. 1994. Bioecología de mosca blanca *Bemisia tabaci*: resultados de estudios realizados en Nicaragua. In de M. Mata, D.E. Dardón Avila y V.E. Salguero Navas (eds.). *Biología y manejo del complejo mosca blanca-virosis. Memorias III Taller Centroamericano y del Caribe sobre Mosca Blanca*. Guatemala. p.73-82.

HARREWIJN, D.; VAN HOOFF, H. A.; NOOKDINGIN, J.P.W. 1981. Flight behavior of the aphid *Myzus persicae* during its maiden flight. *Neth. J. Plant Pathol.* 87:111-117.

HARRISON, B. D. 1985. Advances in geminivirus research. *Annu. Rev. Phytopathol.* 23:55-82.

HARRISON, R.G. 1980. Dispersal polymorphisms in insects. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 11:95-118.

HENNEBERRY, T. J.; TOSCANO, N. C.; FAUST, R. M. y COPPEDGE, J. R. (eds.) 1996. Silverleaf whitefly (formerly Sweetpotato Whitefly, Strain B): 1996 Supplement to the 5-year National Research and Action Plan. 4th. Annual Review. San Antonio, Texas. U.S. Department of Agriculture. 243 p.

HILJE, L. 1993. Un esquema conceptual para el manejo integrado de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en el cultivo de tomate. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 29: 53-60.

1 _____ . 1995. Aspectos bioecológicos de *Bemisia tabaci* en Mesoamérica. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 35:46-54.

_____ . 1996. Introducción. In L. Hilje (ed.). *Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus*. Serie Materiales de Enseñanza No 37. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 133 p.

HILJE, L.; CUBILLO, D.; SEGURA, L. 1993. Observaciones ecológicas sobre la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 30:24-29.

LASTRA, R. 1993. Los geminivirus: un grupo de fitovirus con características especiales. In L. Hilje y O. Arboleda (eds.). Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. CATIE, Turrialba, Costa Rica. Serie Técnica. Informe Técnico N° 205. p.16-19.

LECOUSTRE, R.; FARGETTE, D.; FAUQUET, C.; DE REFFYE, P. 1989. Analysis and mapping of the spatial spread of african cassava mosaic virus using geostatistic and the kriging technique. Phytopathology 79 (9):913-920.

LORENÇAO, A. L.; NAGAI, H. 1994. Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no estado de Sao Paulo. Bragantia (Brasil) 53(1):53-59.

MADDEN, L. V.; LOUIE, R.; ABT, J.J.; KNOKE, J.K. 1982. Evaluation of test for randomness of infected plants. Phytopathology 72(2):195-198.

MARKHAM, P. G.; BEDFORD, I. D.; LIU, S.; PINNER, M.; BRIDDON, R.W. 1994. The transmission of geminiviruses with different biotypes of the *Bemisia tabaci* complex. Phytoparasitica 22(4):324-325.

McGOVERN, R.J.; POLSTON, J.E.; MULLAHEY, J.J. 1994a. *Solanum viarum*: Weed reservoir of plant viruses in Florida. Int. J. Pest Manage. 40(3):270-273.

_____; POLSTON, J.E.; DANYLUK, G.M.; HIEBERT, E.; ABOUZID, A.M.; STANSLY, P.A. 1994b. Identifications of natural weed host of tomato mottle geminivirus in Florida. Plant Dis. 78(11):1102-1106.

McGRATH, P.F.; HARRISON, B.D. 1995. Transmission of tomato leaf curl geminivirus by *Bemisia tabaci*: effects of virus isolate and vector biotype. Ann. Appl. Biol. 126(2):307-316.

MEHTA, P.; WYMAN, J.A.; NAKHLA, M.K. ; MAXWELL, D. P. 1994. Transmission of tomato yellow leaf curl geminivirus by *Bemisia tabaci* (Homoptera : Aleyrodidae). J. Econ. Entomol. 87(5):1291-1297.

MENDENHALL, W.; SINCICH, T. 1996. A second course in statistics. Regression analysis. 5 ed. Prentice Hall, New Jersey. 899 p.

MORRIS, R.F. 1960. Sampling insect populations. Annu. Rev. Entomol. 5:243-264.

NARANJO, S. E. ; FLINT, H.M. 1994. Development and evaluation of sampling plans for immature and adult sweetpotato whitefly in cotton. ARS 125:20.

4502
NARANJO, S. E.; FLINT, H.M. 1995. Spatial distribution of adult *Bemisia tabaci* (Homoptera:Aleyrodidae) in cotton and development and validation of fixed-precision sampling plans for estimating population density. J. Econ. Entomol. 88(6):1666-1678.

_____ ; FLINT, H.M.; HENNEBERRY, T.J. 1995. Comparative analysis of selected sampling methods for adults of *Bemisia tabaci* (Homoptera : Aleyrodidae) in cotton. J. Econ. Entomol. 88(6):1666-1678.

NELSON, S. C. 1995. Spatiotemporal distance class analysis of plant disease epidemics. Phytopathology 85 (1):37-43.

_____ ; CAMPBELL, L. 1993. Comparative spatial analysis of foliar epidemics on white clover caused by viruses, fungi, and bacterium. Phytopathology 83(3):288-301.

_____ ; MARSH, P. L.; CAMPBELL, L. 1992. Dclass, a two-dimensional distance class analysis software for the personal computer. Plant Dis 76 (4):427-432.

NEWTON, C. R.; GRAHAM, A. 1994. PCR. Introduction to Biotechniques. Bios Scientific Publishers. Oxford. 160 p.

NORMAN, Jr. J. W.; SPARKS, Jr.; RILEY, D. G. 1996. Whiteflies in the Lower Rio Grande of Texas in 1995. In P. Duger y D. A. Richter (ed.). Proceedings Beltwide Cotton Production Conferences. National Cotton Council, Memphis, TN. p. 127-128.

OHNESORGE, B.; RAPP, G. 1986. Monitoring *Bemisia tabaci*: A review. Agr. Ecosyst. Envirom. 17(1-2):21-27.

PALUMBO, J. C.; TONHASCA, A. ; BYRNE, D. N. 1995. Evaluation of three sampling methods for estimating adult sweetpotato whitefly (Homoptera : Aleyrodidae) abundances on cantaloupes. J. Econ. Entomol. 88(5):1393-1400.

POLSTON, J. E.; McGOVERN, R. J.; STANSLY, P. A. 1994. Tomato yellow leaf curl virus. University of Florida. Circular. 4 p.

_____ ; AL-MUSA, A; PERRING, T.; DODDS, J. 1990. Association of the nucleic acid of squash leaf curl geminivirus with the whitefly *Bemisia tabaci*. Phytopathology 80(9):850-856.

_____ ; BOIS, D.; CARMONA-SERRA, A.; CONCEPCION, S. 1994. First report of tomato yellow leaf curl-like geminivirus in the Western Hemisphere. Plant Dis. 78:831.

POLSTON, J.E.; CHELLEMI, D.O.; SCHUSTER, D.J.; Mc GOVERN, R.J.; STANSLY, P.A. 1996. Spatial and temporal dynamics of tomato mottle geminivirus and *Bemisia tabaci* (Genn.) in Florida tomato fields. *Plant Dis.* 80:1022-1028.

POWELL, D.A.; BELLOWS, T.S. Jr. 1992. Adult longevity, fertility and population growth rate of *Bemisia tabaci* (Genn.) (Homoptera : Aleyrodidae) on two host plant species. *J. Appl. Entomol.* 113:68-78.

QUIROS, C.A.; RAMIREZ, O.; HILJE, L. 1994. Participación de los agricultores en adoptar y evaluar tecnologías de semilleros contra la mosca blanca (*Bemisia tabaci*), en tomate. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 34:1-7.

RAMIREZ, P. 1997. Los geminivirus. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 43:40-54.

_____; MAXWELL, D. 1995. Geminivirus transmitidos por moscas blancas. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 36:22-27.

_____; RIVERA-BUSTAMANTE, R. 1996. Identificación de geminivirus. In L. Hilje (ed.). *Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. Serie Materiales de Enseñanza N° 37. CATIE. Turrialba, Costa Rica.* p. 30-41.

RIVAS-PLATERO, G.G.; RAMIREZ, P.; CUBILLO, D.; HILJE, L. 1995. Detección de virus en plantas silvestres asociadas con el tomate y el chile dulce en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 30: 37-39.

RIVERA, R. 1995. Recombinación de geminivirus y sus implicaciones en la agricultura. *CEIBA* 36 (1): 99-102.

SALGUERO, V. 1993. Perspectivas para el manejo del complejo mosca blanca-virosis. In L. Hilje y O. Arboleda (eds.). *Las moscas blancas (Homoptera : Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. CATIE. Turrialba, Costa Rica. Serie Técnica. Informe Técnico No. 205.* p. 20-26.

SAS INSTITUTE INC. 1991. *User's Guide Statistic, Versión 6.04.* Cary, NC. SAS Institute Inc. 956 p.

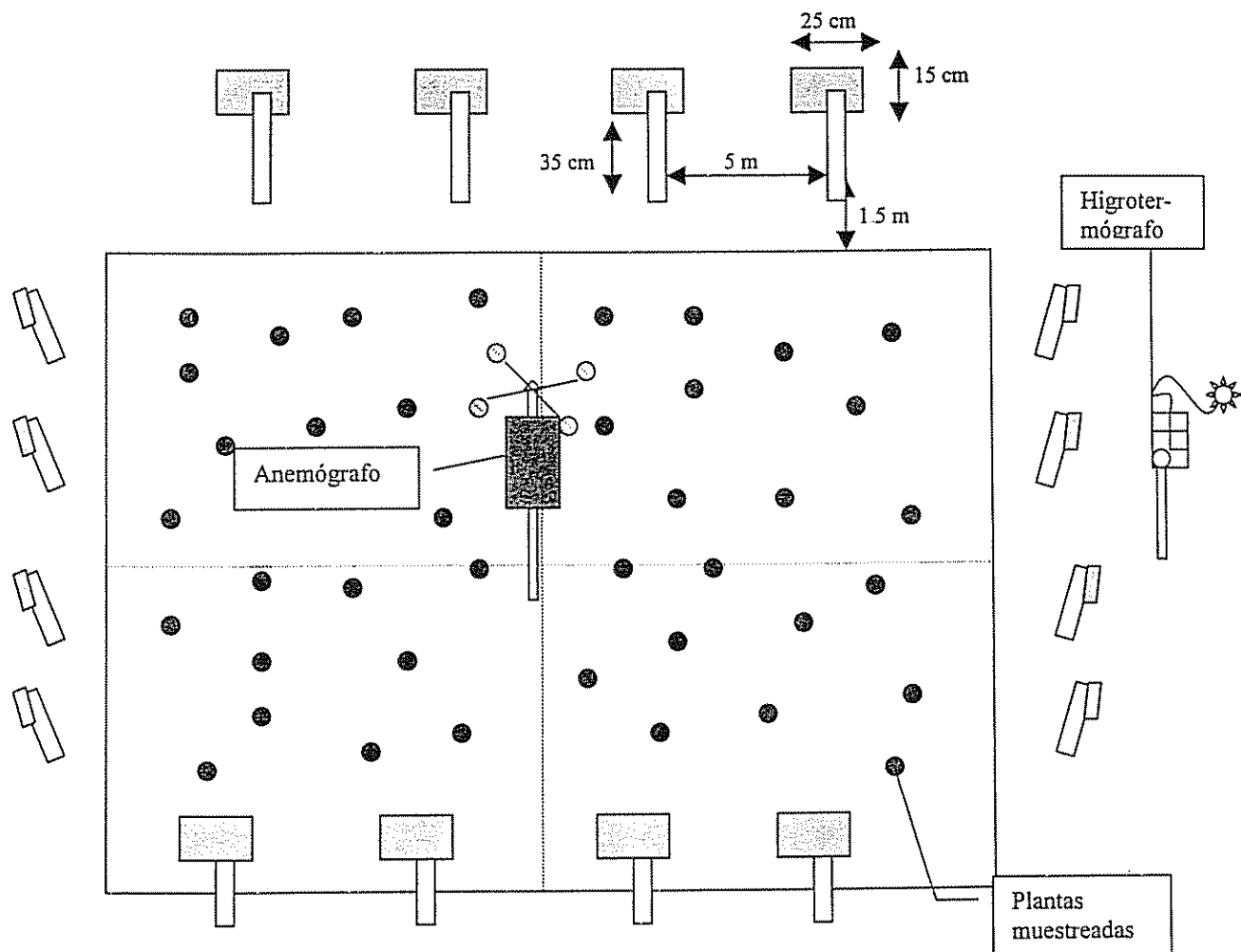
SERRA, C. 1996. Muestreo de moscas blancas. In *Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. L. Hilje (ed.). Serie Materiales de Enseñanza N° 37. CATIE. Turrialba. Costa Rica.* p. 22-29.

TIMMERMANS, M. C.; PREM DAS, O.; MESSING, J. 1994. Geminiviruses and their uses as extrachromosomal replicons. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 45:79-112.

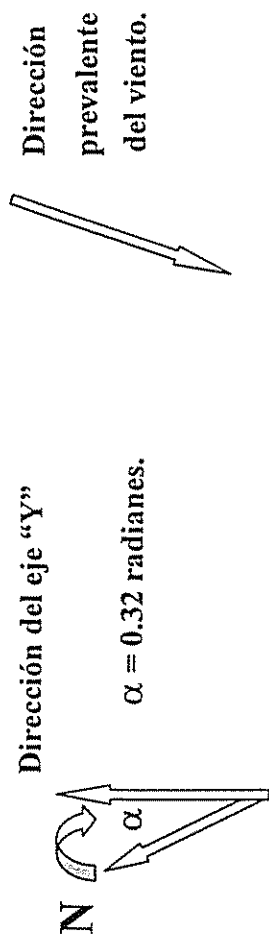
- TOKOMI, R. K.; JIMENEZ, D. R.; OSBORNE, L. S.; SHAPIRO, J. P. 1995. Relationships between the sweetpotato whitefly and the squash silverleaf disorder. *Phytopathology* 80(10):895-900.
- TOSI, J.A. 1989. Mapa ecológico de la República de Costa Rica, según la clasificación de zonas de vida del mundo de L. R. Holdridge. San José, Costa Rica, Centro Científico Tropical.
- UZCATEGUI, R.; LASTRA, R. 1978. Transmission and physical properties of the causal agent of mosaico amarillo del tomate (tomato yellow mosaic). *Phytopathology* 68: 85-988.
- VALAREZO, O.; CAÑARTE, E. 1995. Cultivos y malezas hospederos de mosca blanca en Manabi. *Revista Informativa del Instituto Autónomo de Investigación Agropecuaria de Ecuador*. p. 5-7.
- VAN LENTEREN, J.C.; NOLDUS, L.P.J. 1990. Whitefly-plant relationships: Behavioral and ecological aspects. In Gerling, D. (ed.). *Whiteflies: Their bionomics, pest status and management*. Great Britain, Intercept. p. 47-90.
- WAGNER, T.L. 1995. Temperature-dependent development mortality, and adult size of sweetpotato whitefly biotype B (Homoptera : Aleyrodidae) on cotton. *Environ. Entomol.* 24(5):1179-1188.
- WILFERT ECKEL, R.V.; LAMPERT, E.P. 1993. Spatial and temporal analysis of tobacco etch virus distribution and tis relationship to aphid (Homoptera: Aphididae) vectors in flue-cured tobacco. *J. Econ. Entomol.* 86(5):1534-1545.
- WYATT, S. A.; BROWN, J. K. 1996. Detection of subgroup III Geminivirus isolates in leaf extracts by degenerate primer and polymerase Chain reaction. *Phytopathology* 86 (12): 1288-1293.
- ZAMORA, M.E. 1996. Identificación de plantas silvestres como reservorios de los virus del mosaico dorado del frijol (BGMV) y del mosaico enano del frijol (BDMV), en el valle de Pueblo Nuevo, Nicaragua. Thesis M. Sc. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 83 p.

12. ANEXOS

Anexo 1. Diagrama de las parcelas experimentales I, II y III.

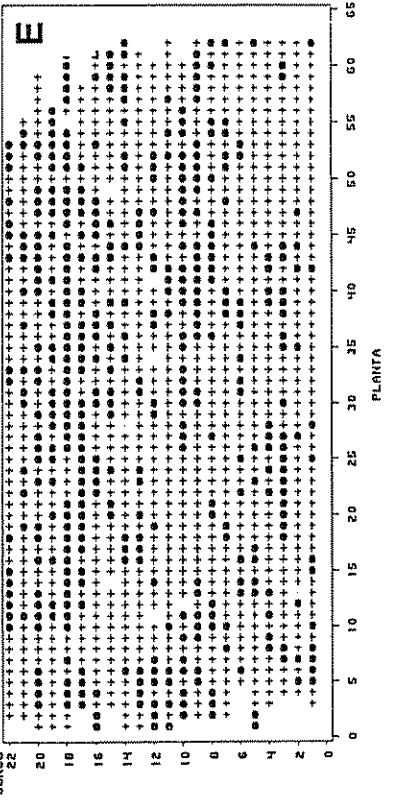
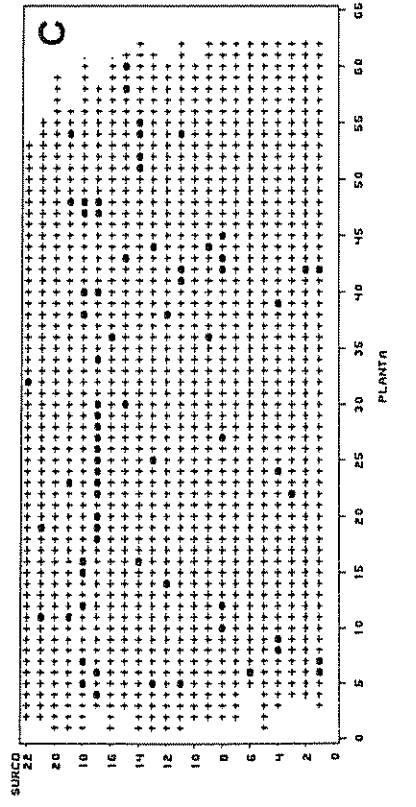
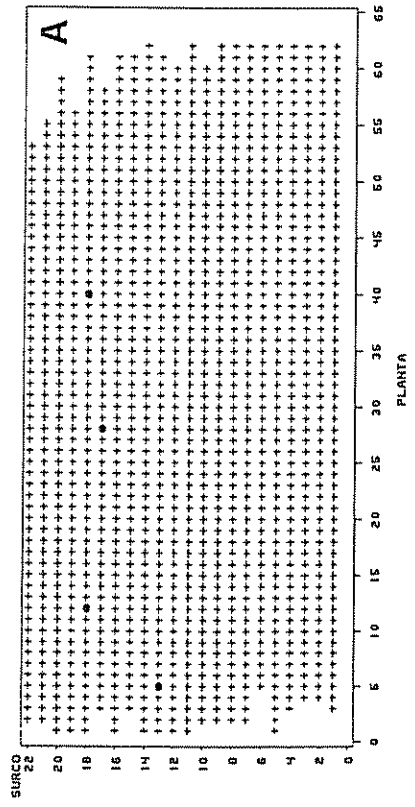
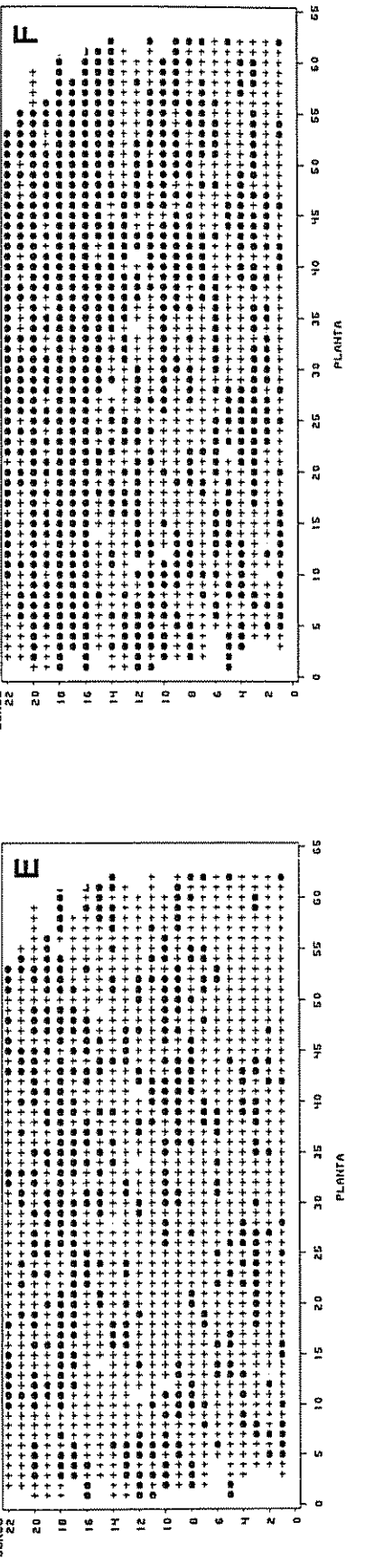
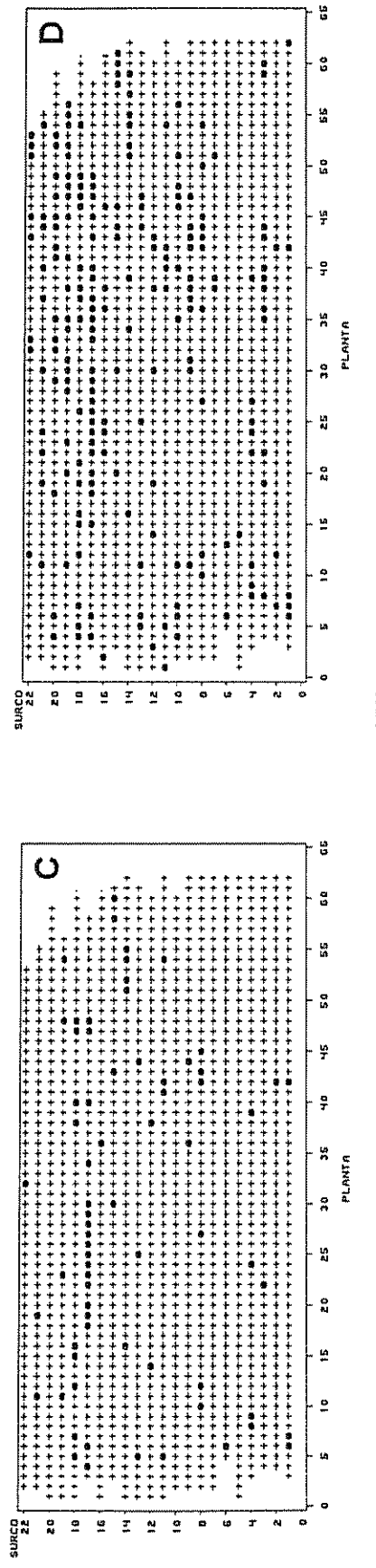
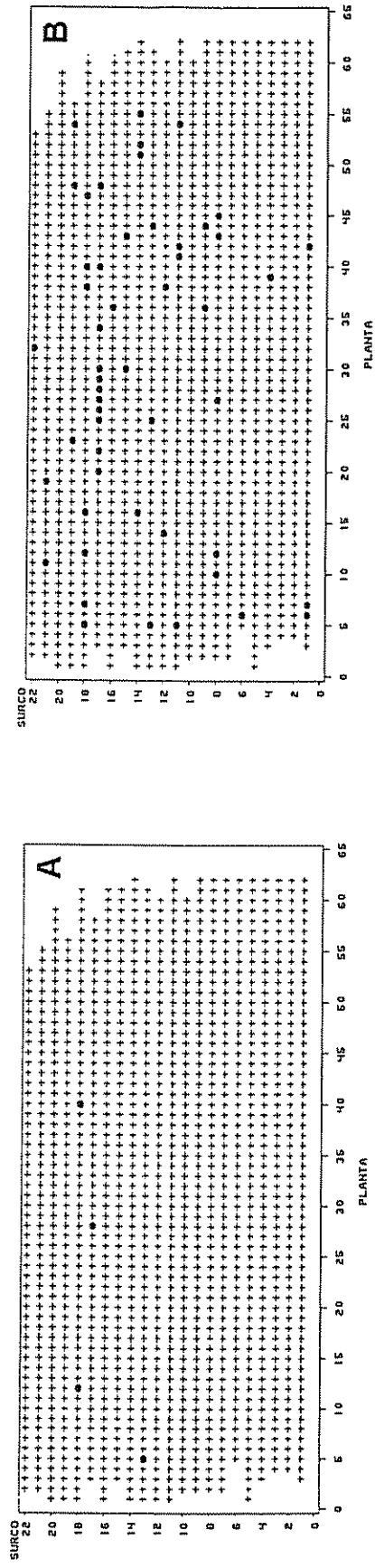


Anexo 2. Disposición de parcelas en experimento de coberturas. Guayabo, Turrialba. Mayo-junio, 1996.

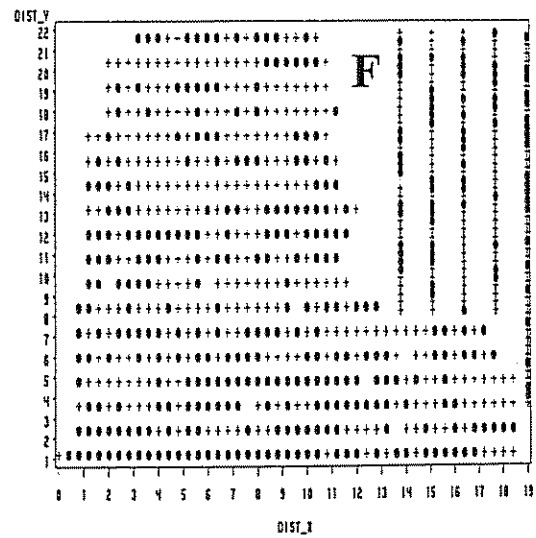
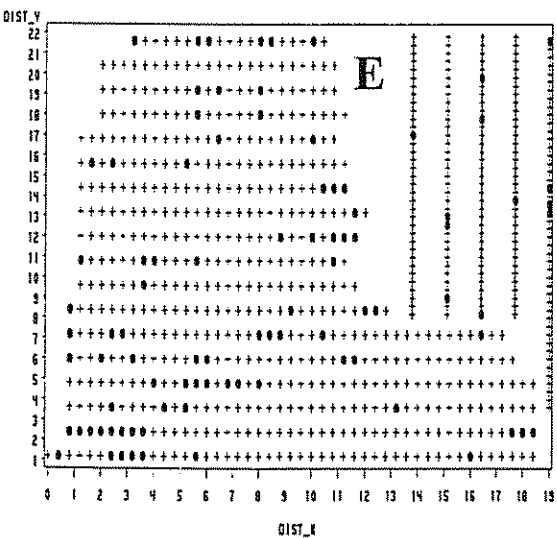
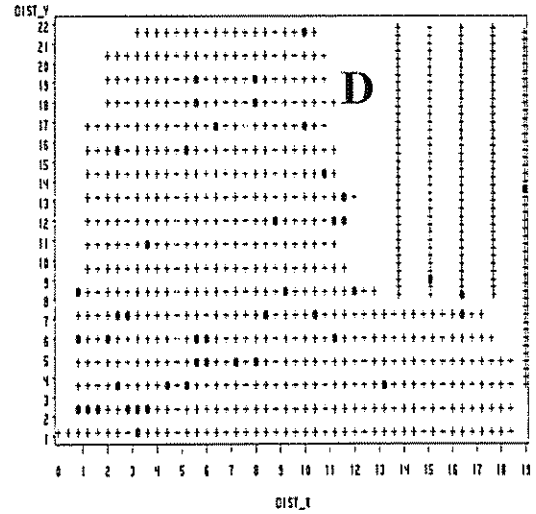
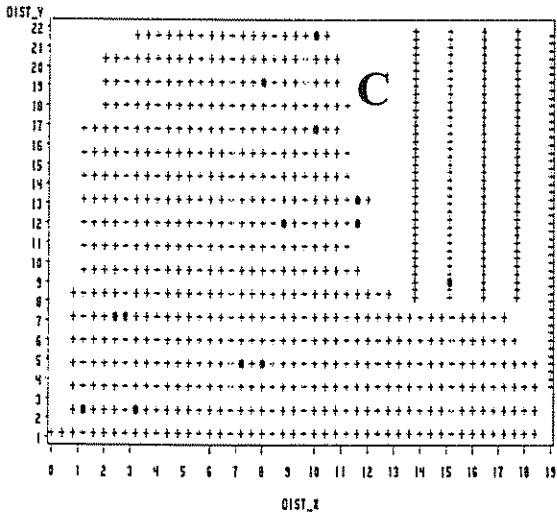
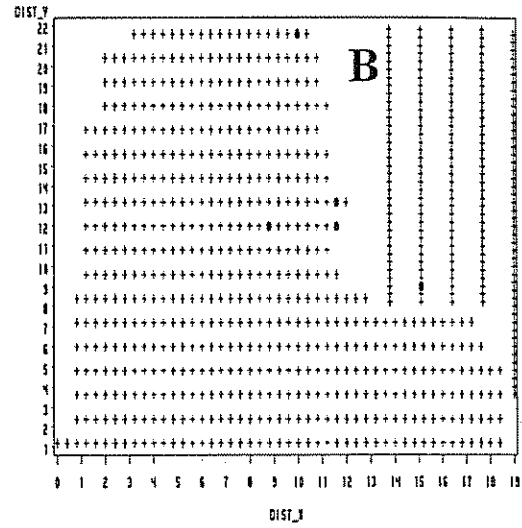
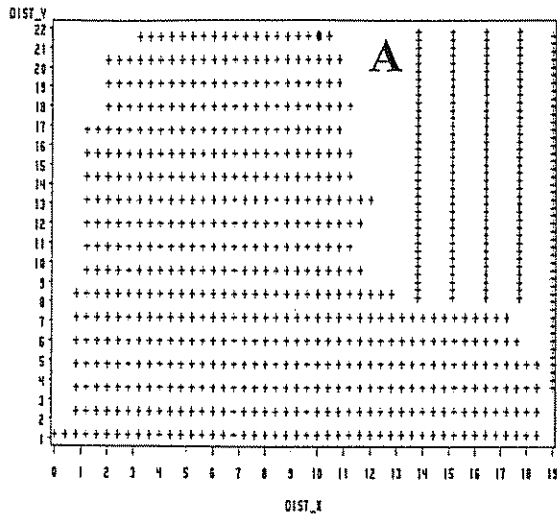


CINQUILLO	TESTIGO 1	PLASTICO VERDE	TESTIGO 2	PLASTICO PLATEADO
-----------	-----------	----------------	-----------	-------------------

Anexo 3. Distribución espacial de plantas sanas (+), infectadas (•) y faltantes (•) para los siguientes puntos en el tiempo: 1(A), 2(B), 3(C), 4(D), 5(E), 6(F), en parcela I. Guayabo, Turrialba.

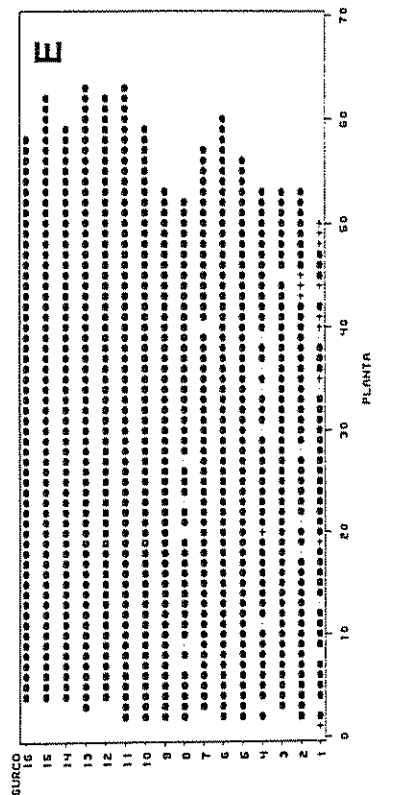
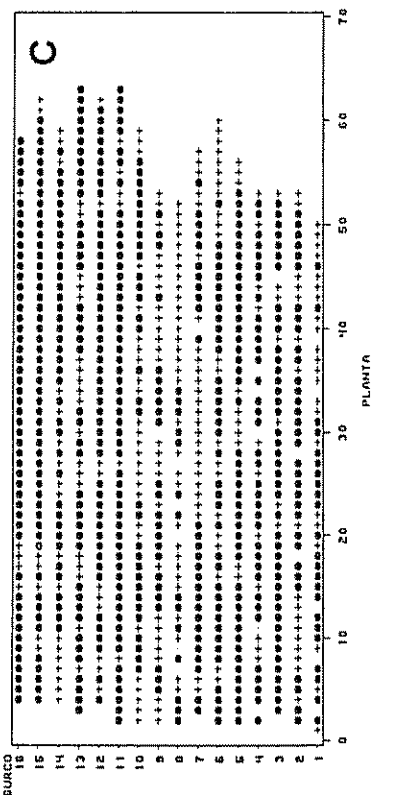
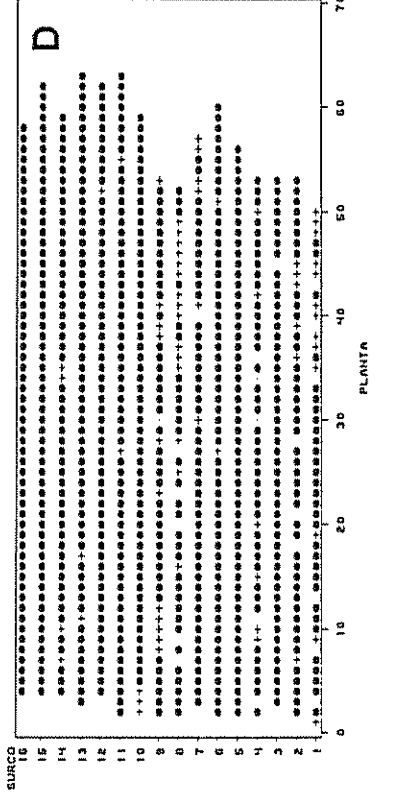
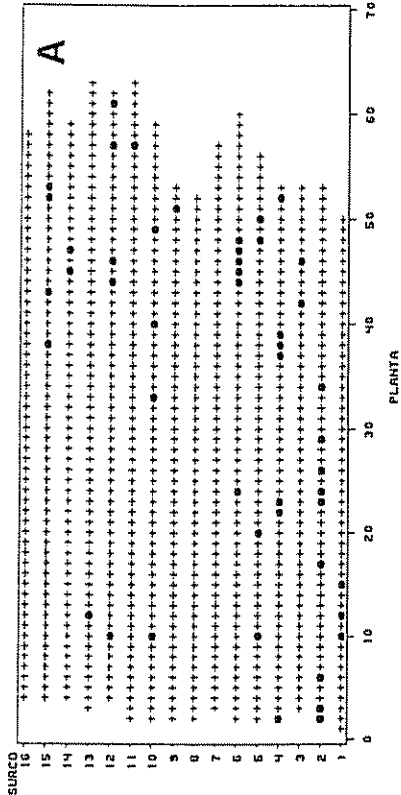
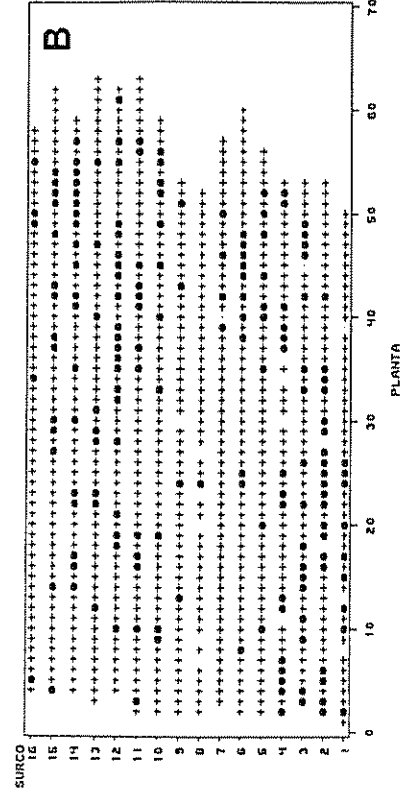


Anexo 4. Distribución espacial de plantas sanas (+), infectadas (•) y faltantes (-) para los siguientes puntos en el tiempo: 1(A), 2(B), 3(C), 4(D), 5(E), 6(F), en parcela II*, Guayabo, Turrialba.

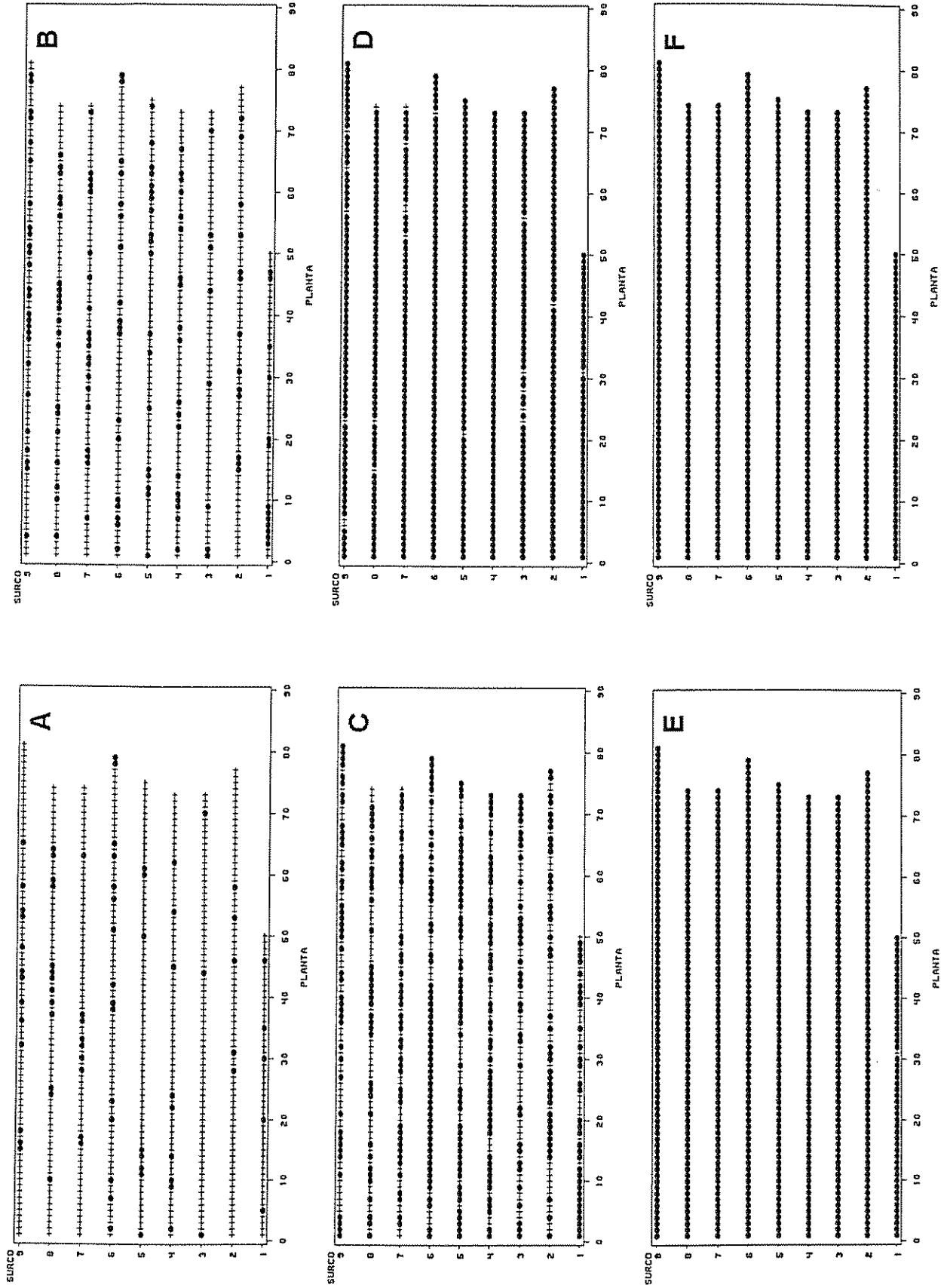


* No fue posible definir la posición de las plantas en base a surco y planta debido a los surcos transversales; por lo cual se incluyeron sus distancias al origen.

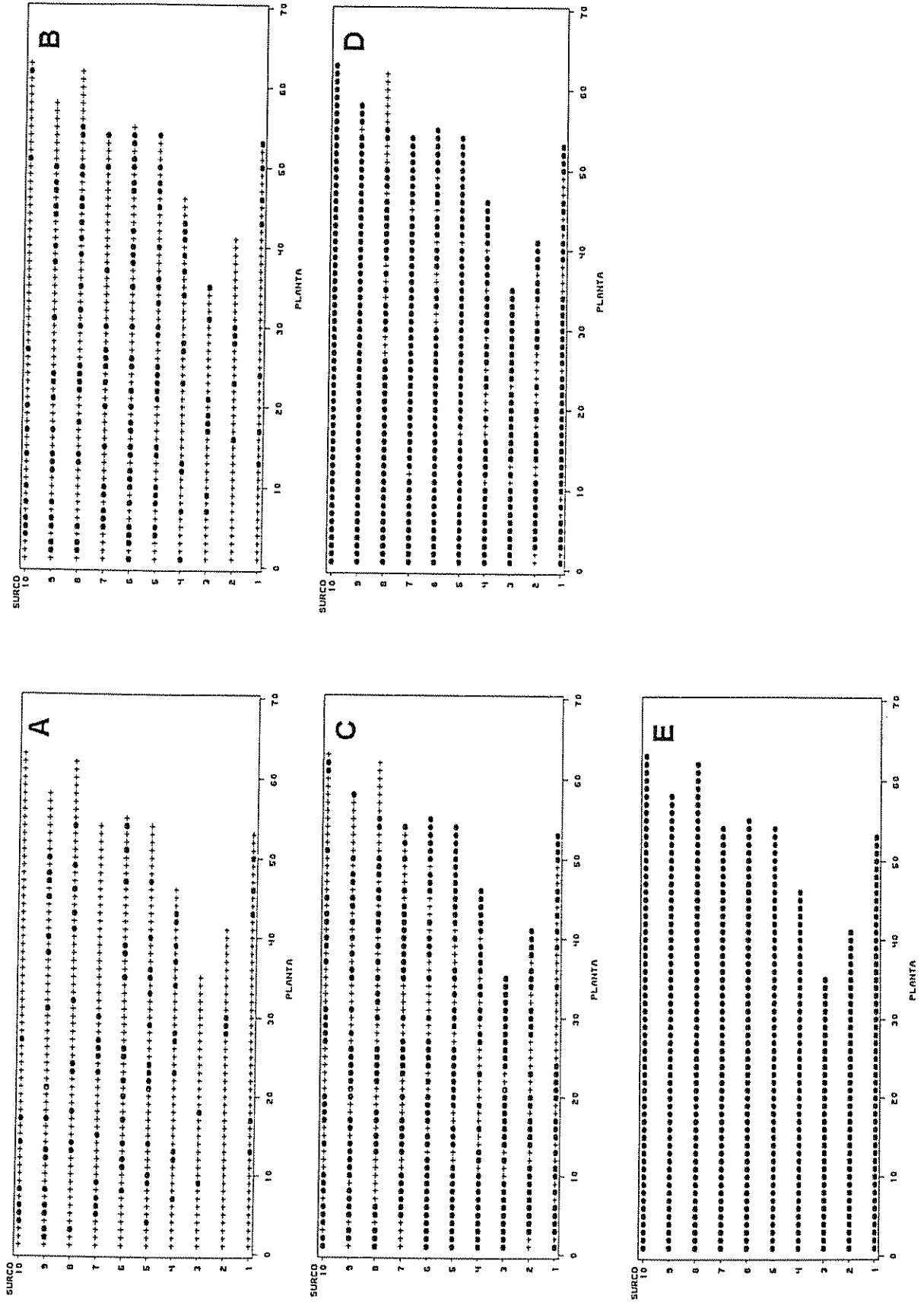
Anexo 5. Distribución espacial de plantas sanas (+), infectadas (●) y faltantes (·) para los siguientes puntos en el tiempo: 1(A), 2(B), 3(C), 4(D), 5(E), en parcela III. Guayabo, Turrialba.



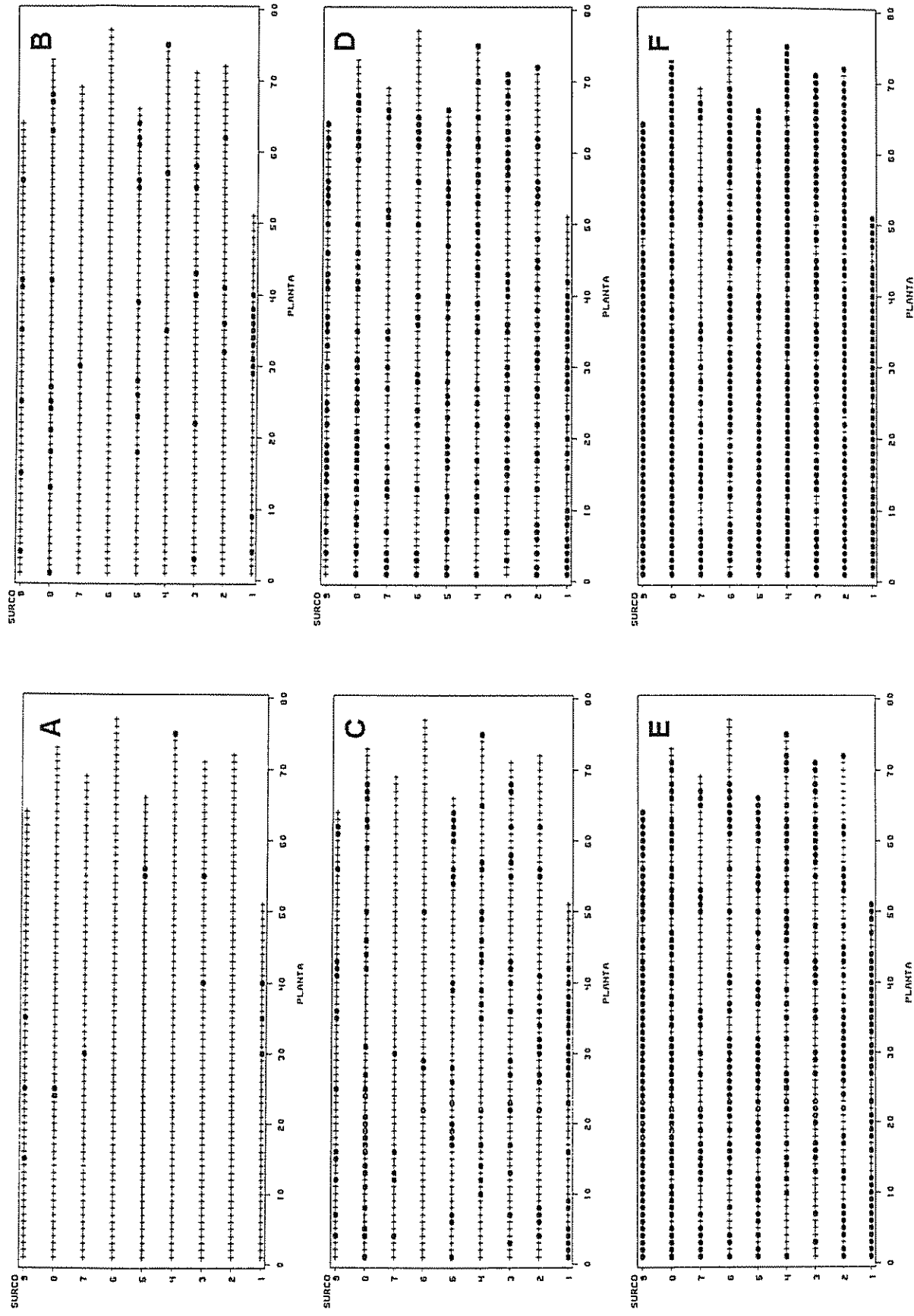
Anexo 6. Distribución espacial de plantas sanas (+) e infectadas (●) para los siguientes puntos en el tiempo: 1(A), 2(B), 3(C), 4(D), 5(E), 6(F), en parcela testigo I. Guayabo, Turrialba.



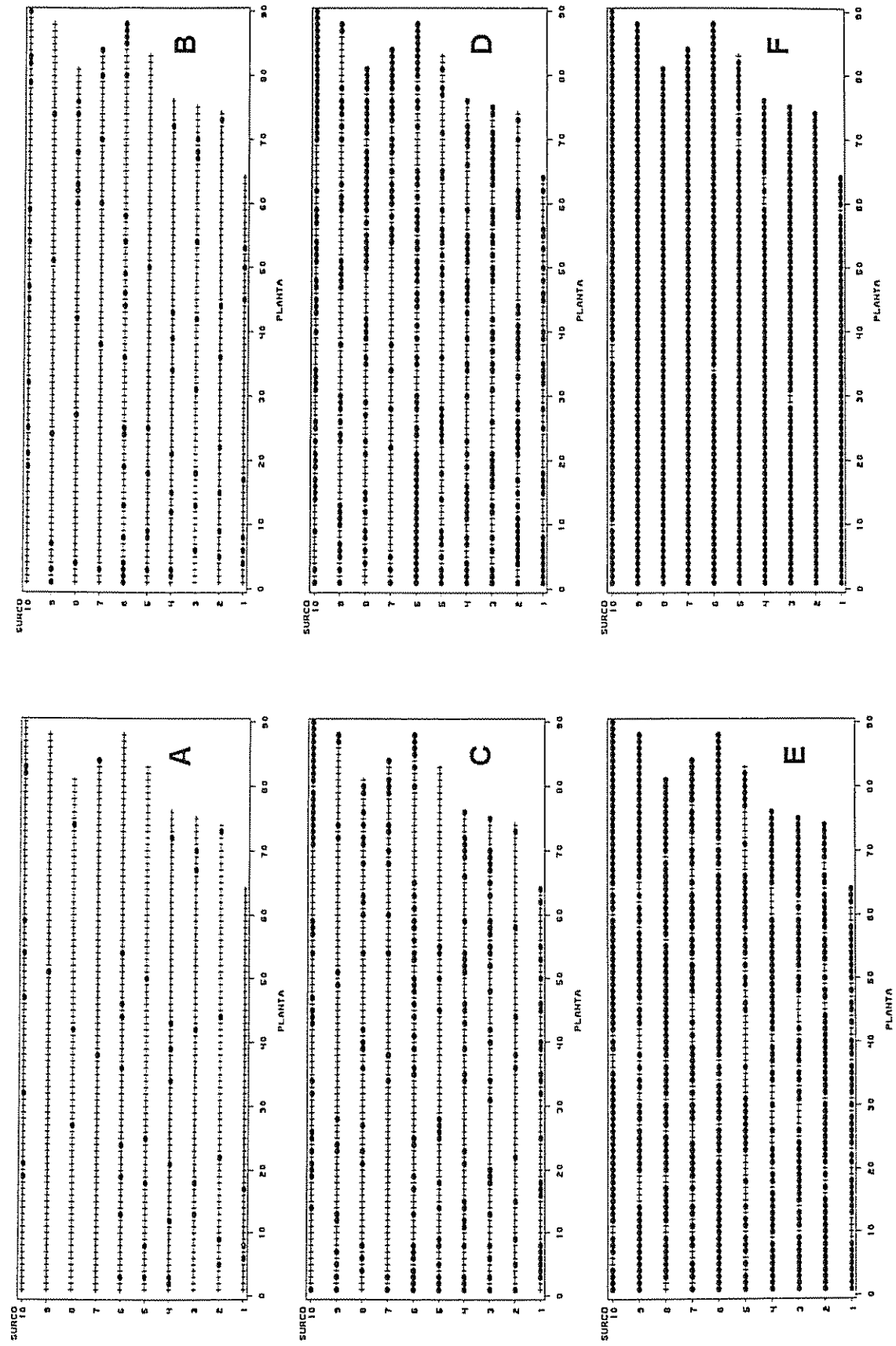
Anexo 7. Distribución espacial de plantas sanas (+) e infectadas (●) para los siguientes puntos en el tiempo: 1(A), 2(B), 3(C), 4(D), 5(E), en parcela testigo 2. Guayabo, Turrialba.



Anexo 8. Distribución espacial de plantas sanas (+) e infectadas (o) para los siguientes puntos en el tiempo: 1(A), 2(B), 3(C), 4(D), 5(E), 6(F), en parcela cinquillo (CQ). Guayabo, Turrialba.

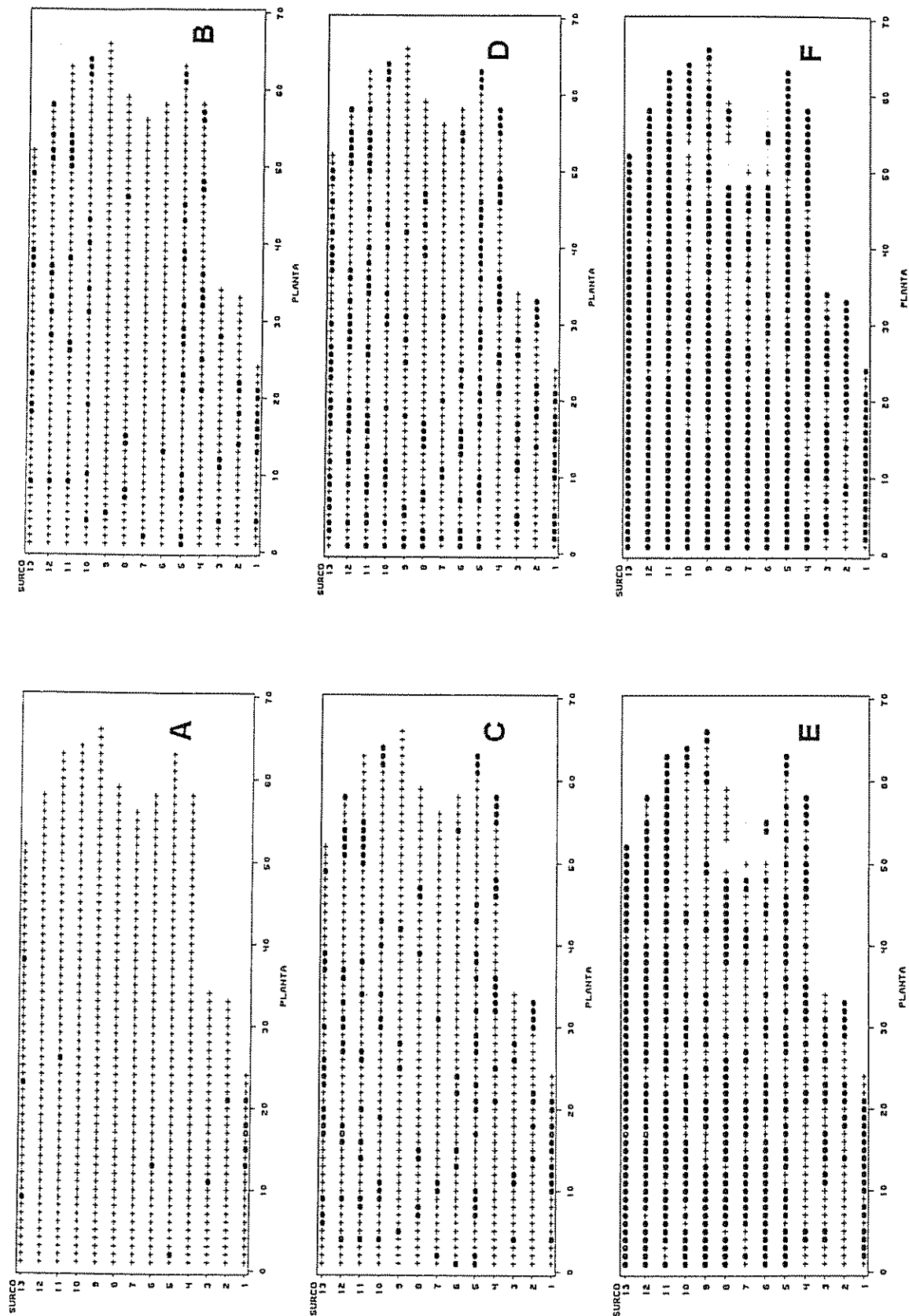


Anexo 9. Distribución espacial de plantas sanas (+) e infectadas (•) para los siguientes puntos en el tiempo: 1(A), 2(B), 3(C), 4(D), 5(E), 6(F), en parcela plástico verde (PV)*. Guayabo, Turrialba.



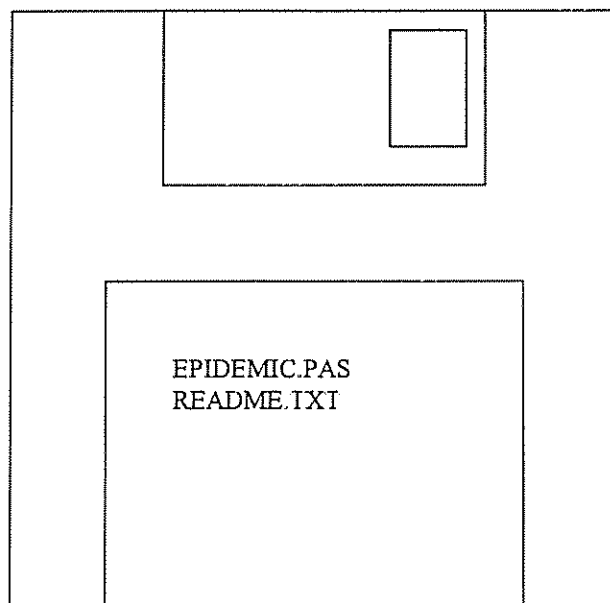
* En el punto 7 en el tiempo, todas las plantas, excepto una estaban enfermas.

Anexo 10. Distribución espacial de plantas sanas (+), infectadas (●) y faltantes (·) para los siguientes puntos en el tiempo: 2(A), 3(B), 4(C), 5(D), 6(E), 7(F), en parcela plástico plateado (PP)*. Guayabo, Turrialba.



* En el punto 1 en el tiempo, no habian plantas enfermas y el punto 8, casi todas las plantas enfermas.

Anexo 11. Código del programa EPIDEMIC y un archivo LEAME.TXT, con instrucciones generales acerca de cómo usar dicho programa (ver diskette en contracarátula).



Anexo 12. Técnicas utilizadas para el cálculo de los datos requeridos para la implementación de la regresión logística.

Marco teórico de la regresión logística

El hecho que una planta se enferme en un punto $tn+1$ en el tiempo, ¿está relacionado con la presencia de plantas ya infectadas en períodos anteriores, dentro de la misma parcela?

La pregunta anterior constituye el elemento central del análisis propuesto en este trabajo. Para responderla se pretende comparar la situación de las plantas nuevamente infectadas con la de plantas que se encontraban aún sanas en ese punto en el tiempo. Si no hay efecto significativo con respecto a las variables observadas, puede concluirse que dichas variables no son importantes para describir el procedimiento de la infección dentro de la parcela. Si, por el contrario, hay un efecto significativo de dichas variables (ángulo y/o distancia) se podría concluir que la presencia de plantas infectadas en períodos anteriores es importante para que la diseminación de la enfermedad suceda en un campo determinado.

La incidencia de una enfermedad sigue una distribución de tipo binomial, puesto que una planta únicamente puede estar sana o enferma en un punto tn en el tiempo. Este tipo de relaciones funcionales pueden ser caracterizadas a través de la regresión logística. Frecuentemente, las relaciones entre una variable cualitativa binaria y una sola variable independiente x es curvilínea, de modo que los puntos sobre la curva representan la probabilidad $P_i = P(y=1)$ para cada valor de x (Mendenhall y Sincich 1996). Es decir, representan la probabilidad de que una planta esté sana o enferma y la distancia entre los puntos representados en la curva y la proyección horizontal de los valores de la variable dependiente o binaria, reflejan dicha probabilidad (Fig. 1).

Ecuación general de regresión logística para una variable dependiente binaria:

$$E(y) = \frac{\exp(\beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_k X_k)}{1 + \exp(\beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_k X_k)}$$

En la Figura 1 se ilustra la influencia hipotética de la distancia entre plantas nuevamente infectadas (en el punto $tn+1$ en el tiempo) y plantas infectadas en el período anterior (tn) y se observa que a medida que la distancia entre dichas plantas es menor (menor distancia en el eje x) mayor número de puntos (plantas infectadas) alcanzan el valor de 1 para la variable binaria. Por el contrario, cuando la distancia aumenta, los puntos tienden a concentrarse en la proyección horizontal del valor cero de la variable binaria, es decir a medida que las plantas infectadas están más cerca, mayor es la probabilidad de que aparezcan plantas nuevamente infectadas.

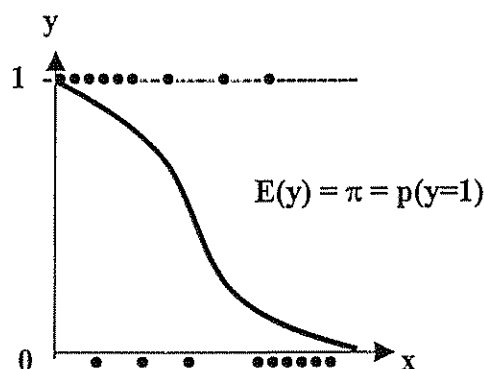


Figura 1. Probabilidad de infección ($E(y)$) para un modelo logístico de regresión.

En la regresión logística, los parámetros calculados requieren una interpretación particular (descrita en **Materiales y Métodos**), debido a que este tipo de modelos no son lineales con respecto a los parámetros de la regresión (β 's), lo cual significa que la esperanza condicional de Y , $E(Y|X)$, no es una función lineal de los parámetros de dicha regresión (Guharati 1994).

Cálculos realizados por el programa EPIDEMIC

El programa EPIDEMIC funciona en TURBO PASCAL 5.0 o superior. Los datos necesarios para la ejecución de dicho programa pueden ser preparados en cualquier hoja electrónica, procesador de palabras o base de datos que sea capaz de generar archivos en

ASCII. Los datos deben ser organizados en columnas. Las primeras dos columnas representan las coordenadas de cada planta (distancias euclidianas relativas al origen). Tales coordenadas indican la posición espacial relativa de cada planta en una matriz de dos dimensiones (x, y). Las subsecuentes columnas representan los diferentes puntos en el tiempo en el cual fue registrada la incidencia de la enfermedad; cada una contiene los valores de la variable binaria, los cuales pueden ser 0, 1 o 2 dependiendo de si la planta se encontraba sana, enferma o ausente en dicho punto en el tiempo. En términos generales, el programa realiza los siguientes cálculos:

Para cada punto en el tiempo ($tn > 1$) se determina, para cada planta nuevamente infectada y para cada planta todavía sana en $tn+1$:

1. Distancia (en metros) a la planta más próxima que ya estaba infectada en el punto " tn " en el tiempo. Si se consideran dos plantas cualesquiera sobre un plano cartesiano, la distancia horizontal entre dichas plantas será denominada abscisa y la distancia vertical será la ordenada; la convergencia de la abscisa y la ordenada forman el ángulo recto de un triángulo rectángulo, cuya hipotenusa representa la distancia entre dichas plantas.
2. Angulo (en radianes) entre el vector que va desde la planta ya infectada en tn hacia la planta de referencia y la dirección del eje Y (Fig. 2). Partiendo de dos conceptos básicos, se puede definir la circunferencia de un círculo con un valor igual a $2*\pi$ radianes, y también es posible calcular el valor de un ángulo a través de la arcotangente del cociente resultante, entre el cateto opuesto sobre el cateto adyacente. Podemos definir dicho triángulo si se consideran dos plantas en el espacio, una de las cuales se infecta en el punto $tn+1$ en el tiempo (planta de referencia) y otra que ya estaba infectada en el punto anterior tn (planta de destino).

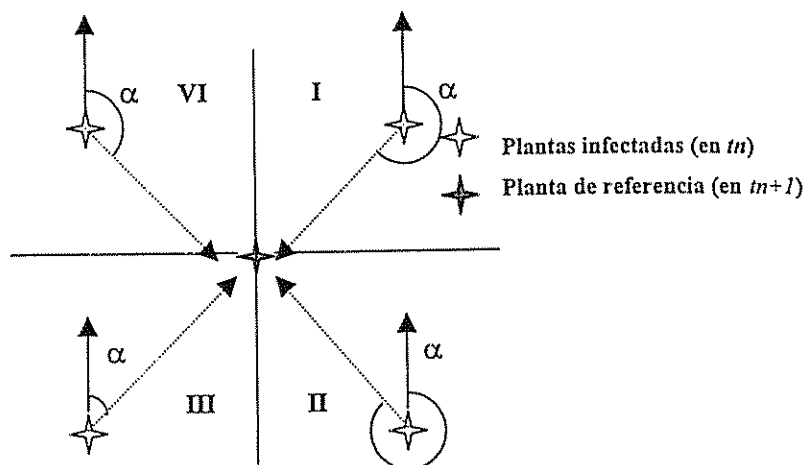


Figura 2. Ilustración de ángulos relativos a la dirección del eje y .

Así el ángulo hasta la planta de referencia es calculado a partir de la dirección del eje Y . Considerando los cuatro cuadrantes y los casos límites en los ejes, existen ocho situaciones que generalizan la ocurrencia de todos los posibles ángulos formados entre ambos vectores (Cuadro 1).

Cuadro 1. Diferentes ángulos formados entre la planta destino y la dirección del eje y

Δx	Δy	Ubicación de planta destino	Angulo formado
0	> 0	Sobre eje y	0
	< 0	Sobre eje y	π
> 0	0	Sobre eje x	$\pi/2$
	> 0	II cuadrante	$\text{Arctan}(\Delta x/\Delta y)$
	< 0	III cuadrante	$\pi - (\text{Abs}(\text{Arctan}(\Delta x/\Delta y)))$
< 0	0	Sobre eje x	$3\pi/2$
	> 0	I cuadrante	$2\pi - (\text{Abs}(\text{Arctan}(\Delta x/\Delta y)))$
	< 0	IV cuadrante	$\pi + \text{Arctan}(\Delta x/\Delta y)$

Δx : Diferencia de posición en el eje x ; Δy : Diferencia de posición en el eje y ; Arctan : Arcotangente;
 Abs : Valor absoluto.

3. Angulo (en radianes) entre la dirección prevalente del viento y el vector formado por la planta ya infectada en tn con la planta de referencia.

En este caso el cálculo del ángulo que forma de referencia, con respecto a la dirección prevalente del viento, está basado en el ángulo determinado en el punto anterior. En este punto interesa saber si la dirección en que la enfermedad se disemina en el campo es dependiente de la dirección del viento, puesto que se ha documentado la influencia del viento en el comportamiento de vuelo de *B. tabaci* (Meyerdirk y Moreno 1984; Byrne *et al.* 1990). Es necesario aclarar que se considera un ángulo máximo menor o igual a π (la mitad de la circunferencia), puesto que, por razones de simetría, será igual el efecto de una planta ubicada en un ángulo de 1 radian (por ejemplo) si esta está a la derecha o a la izquierda de dicha dirección prevalente (Fig. 3).

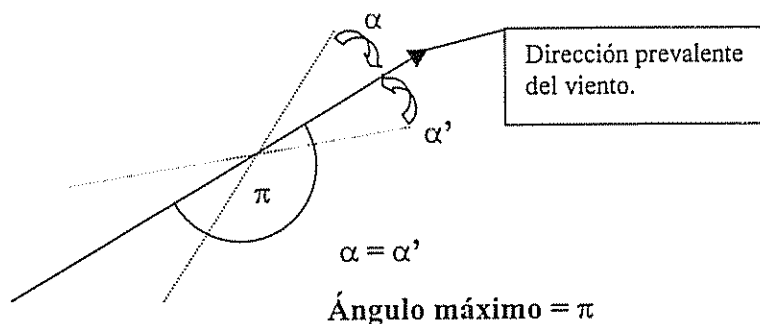


Figura 3. Ilustración de ángulos relativos a la dirección prevalente del viento.

El valor de tales ángulos depende, al igual que en el caso anterior, de la ubicación de la planta destino; sin embargo, es necesario incorporar un artificio que permita fijar π como el valor máximo de dicho ángulo. Dicho artificio complica considerablemente la explicación de la forma en que dicho ángulo es calculado. Para mayor información, se debe consultar los algoritmos en el texto del programa (Anexo 11).

En el caso en que dos o más plantas se encontraran en la misma distancia mínima, es imposible separar el efecto de cada una de las plantas que están actuando como fuentes

de inóculo hacia la planta nuevamente infectada. Por lo tanto no es posible identificar un ángulo único hasta la planta más próxima. En estos casos solamente se determinó la distancia mínima, no considerándolo para los análisis de ángulos. También se excluyen del análisis las plantas faltantes, dado que este tipo de situaciones no contribuyen a la comprobación de las hipótesis planteadas.

4. Número total de plantas, así como de plantas infectadas, dentro de un círculo de radio 0.99, 1.99, ..., 5.99 m, con centro en la planta de referencia, cuya condición sanitaria fue también registrada (0 = sana, 1 = infectada).

Este procedimiento genera, para cada punto en el tiempo, la condición sanitaria de cada una de las plantas en la parcela y además el número de plantas ya enfermas en el período anterior en el tiempo, en círculos de radios definidos (de 0,99 – 5,99 m). Con estos datos pueden generarse algunas nuevas variables, como la frecuencia relativa de plantas infectadas en m , la cual se obtiene dividiendo el número de plantas ya infectadas en el círculo entre el número total de plantas vivas en dicho surco (no se cuentan plantas faltantes). También es posible calcular el número de plantas infectadas en los anillos que forman cada uno de los círculos superiores en torno al círculo subyacente; para ello basta con restar del número de plantas infectadas en el círculo superior, el número de plantas infectadas en el círculo subyacente. También es posible estandarizar dicha diferencia, dividiéndola entre la diferencia de los totales de plantas en cada uno de los anillos.

La salida del programa (EPIDEMIC) genera una serie de archivos de datos conteniendo la información mencionada anteriormente. A través de la utilización del procedimiento LOGISTIC de SAS (SAS Institute 1991) se estiman los coeficientes de la regresión logística utilizando la condición sanitaria de la planta (sana o enferma) como variable dependiente y se utiliza, como variables independientes, las variables distancia, ángulo, o bien el número de plantas (número relativo) infectadas en un círculo o anillo de radio definido.

Anexo 13. Protocolos de trabajo para la detección de geminivirus, mediante hibridación radioactiva y no radioactiva de ácidos nucleicos.

Extracción de ADN. Se utilizó el método de extracción de ADN “Dellaporta”, referido a la extracción de ácidos nucleicos totales. En un tubo Eppendorf, se agregaron 0,05 g de material vegetal el cual contenía, en la mayoría de los casos, muestras de varias plantas de la misma especie. A dicho tubo se agregaron 500 μ l de buffer de extracción (Tris HCl, EDTA, NaCl, betamercaptoetanol, pH 8,4), 33 μ l de SDS y se procedió al macerado mediante un pistilo kontes.

Luego de agitarlo (vortex) por 5 min, se incubó a 65° C durante 10 min. Se agregaron 160 μ l de KOHC (5 Molar), para ayudar a eliminar contaminantes. Se agitó durante 2 min y se clarificó mediante centrifugación a 10,000 rpm durante 5 min. Del sobrenadante se tomaron 500 μ l en un tubo limpio y se agregaron 500 μ l de PCI (Phenol Chloroform Isoamil 25:24:1), luego se agitó por 5 min y se centrifugó por 5 min a 10,000 rpm. Del sobrenadante se tomaron 450 μ l en un tubo limpio y se agregaron 0,5 volúmenes de isopropanol, y se agitó suavemente; el ADN se dejó precipitar por 10 min en hielo y se volvió a centrifugar a 10,000 rpm durante 5 min. Extrayendo la fase líquida se obtuvo el “*pellet*” que contiene el ADN, este fue lavado con 1000 μ l de etanol 70% y posteriormente colocado en el liofilizador para su completo secado. Finalmente dicho *pellet* se resuspendió en 50 μ l de agua bidestilada estéril.

Para la hibridación radioactiva se utilizó un protocolo de hibridación de ácidos nucleicos con radioactividad modificado (Dra. Pilar Ramírez 1995, CIBCM- UCR, com. pers.)

Preparación de la membrana para hibridación. La membrana se humedeció durante 5 min en solución de hibridación 6X SSC, 0.5 % SDS. Se tomaron 2 μ l de la solución Dellaporta y se colocaron tres repeticiones de cada una de las muestras, cada una conteniendo dos alícuotas de la misma, incluyendo controles positivos y negativos.

Posteriormente el ADN fue fijado a la membrana mediante la aplicación de rayos ultravioleta.

Prehibridación. Se utilizó una solución compuesta por la solución amortiguadora 6xSSC, BLOTTO 0,05x, 1% NP₄O (5% de leche Dos Pinos descremada y pulverizada, disuelta en agua conteniendo 0,02% azida de sodio, 1% del detergente neutro NP₄O, inhibidor de nucleasas) y 10 µg/µl de ADN de esperma de salmón fragmentado y desnaturalizado mediante calor a 95°C y posteriormente colocado en hielo 5 min para impedir la renaturalización (en lo sucesivo, el proceso de desnaturalización implica el procedimiento descrito). Se usó 0,2 ml de solución/cm² de membrana. Se incubó a 68°C por 1 h, para luego agregar la solución de hibridación.

Hibridación radioactiva. Se utilizó la solución compuesta por la solución de amortiguadora 6xSSC, 0,5%SDS, ADN de esperma de salmón a una concentración de 100 µg/ml, fragmentado y desnaturalizado, más las sondas radioactivas (universal y específica, en tubos separados de hibridación) previamente desnaturalizadas. La membrana inmersa en la solución, se incubó a 68°C durante 34 h. Los lavados de poshibridación determinaron la astringencia de la reacción de hibridación. Se realizaron tres lavados por 10 min en la solución amortiguadora 2xSSC, 0,1%SDS a temperatura ambiente, más dos lavados por 15 min con la misma solución amortiguadora a 42°C, para eliminar el exceso de radioactividad. Se trabajó con baja astringencia, debido a que el objetivo era la identificación de geminivirus presentes en las muestras. Posteriormente se cubrió con "Saran Wrap" en condiciones húmedas, y se colocó la película de rayos-X a ambos lados de la membrana. Se incubó en la oscuridad a -70°C durante toda la noche. Luego, esta se colocó en una solución reveladora por 5 a 10 min hasta que cambió de color, se lavó con agua destilada, y se sumergió en una solución fijadora y finalmente se analizaron los resultados obtenidos.

Dado que algunas muestras resultaron positivas cuando se utilizó la sonda universal (es decir, se encontró que habían geminivirus diferentes al ToYMV), se preparó otra

membrana (con la misma metodología descrita para la hibridación radioactiva), utilizando únicamente muestras de ADN correspondientes a dichas plantas, y se procesaron mediante hibridación de ácidos nucleicos con sondas frías, pues siempre es deseable corroborar los resultados obtenidos a través de dos metodologías diferentes. Para el desarrollo del método de hibridación de ácidos nucleicos con sondas frías, se siguieron los pasos recomendados en el protocolo de Gene Images Non Isotropic Nucleic Acid Detection Kit (United States Biochemical).

Prehibridación. Esta se realizó con la solución amortiguadora de hibridación (7% SDS, 1% caseína, 1mM EDTA y 0.25 M Na₂HPO₄·7H₂O, pH 7) a 65°C por 1 h, colocando 0,2 ml de solución amortiguadora / cm² de membrana, para sellar los espacios de la membrana en donde no había ADN, y que al momento de la hibridación la sonda no se adhiriera en los espacios donde no había ADN en la membrana.

Hibridación fría. Se utilizó una sonda universal, la cual puede formar híbridos con cualquier geminivirus. Dicha sonda fue desnaturalizada, para que se pudiera unir con el ADN viral de la muestra, el cual se encuentra a simple banda. Se colocó la membrana en un recipiente plástico que contenía la sonda desnaturalizada, diluida en la solución amortiguadora de hibridación a una concentración de 20 ng/ml, durante toda la noche a 65°C. Se efectuaron cinco lavados de pos-hibridación a temperatura ambiente, a la membrana: dos con la solución amortiguadora 2X SSCT 0,5% SDS (20x SSC=3M NaCl, 0,3 M Na-citrato, pH 7), el primero por 5 min y el segundo por 20 min; uno con la solución amortiguadora 0.2x SSCT 0.1 SDS durante 30 min; finalmente se realizaron dos lavados con la solución amortiguadora 2x SSC sin SDS durante 5 min. Se realizó un enjuague con agua destilada entre cada lavado, durante 5, 10, 20, 5 y 5 min respectivamente, todos a temperatura ambiente.

La detección se realizó mediante quimioluminiscencia. Consistió en aplicarle el bloqueador de solución amortiguadora 5X 0,5 ml/cm² de membrana y se mantuvo 1 h a temperatura ambiente con agitación; posteriormente la membrana permaneció en el

bloqueador durante 72 h a 4°C. El bloqueador no tiene ninguna afinidad por el ADN y su función es bloquear los sitios en blanco de la membrana. Se aplicó la enzima streptavidina fosfatasa alcalina (SAAP) por 10 min. Se efectuaron cuatro enjuagues con la solución amortiguadora 1X (0,05 M Tris pH 10, 1M NaCl más 0,5 % SDS), el primero por 5 min, el segundo por 20 min y los dos restantes por 30 min, realizando un enjuague con agua destilada durante 5, 15, y 20 min, respectivamente, después de los lavados 1, 2 y 3. Se finalizó con un enjuague con solución amortiguadora 1X sin SDS, durante 20 min. Se colocó la membrana dentro de una bolsa plástica y se agregó Lumi-Phos 530, y se mantuvo durante toda la noche a temperatura ambiente, el cual sirvió como sustrato de la enzima, para producir un compuesto inestable que cuando se hidroliza libera energía y produce luz.

Luego se colocó la cara de la membrana (sin sacarla de la bolsa) contra una película de rayos-X del tamaño de la membrana y se colocó en un cassette de detección durante una hora, en un cuarto oscuro para detectar la luz emitida por la película, procediendo posteriormente al revelado e interpretación de la misma.

Anexo 14. Análisis de varianza para el total de adultos inmigrantes, para todas las fechas de muestreo. Parcelas I, II y III.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Pr > F
PARCELA I					
Modelo	7	0,3156	0,0450	1,49	0,1927
Error	48	1,4505	0,0302		
Total	55	1,7661			
corregido					
PARCELA II					
Modelo	5	0,0743	0,0148	0,92	0,4785
Error	36	0,5814	0,0161		
Total	41	0,6558			
corregido					
PARCELA III					
Modelo	11	0,5905	0,0536	0,73	0,7020
Error	72	5,2620	0,0730		
Total	83	5,8525			
corregido					

Anexo 15. Análisis de varianza para el total de adultos repoblando las plantas de tomate, para todas las fechas de muestreo. Parcelas I, II y III.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Pr > F
PARCELA I					
Modelo	7	2,5609	0,3658	4,67	0,0005
Error	48	3,7593	0,0783		
Total	55	6,3203			
corregido					
PARCELA I					
Modelo	5	0,0642	0,0128	1,90	0,1189
Error	36	0,2435	0,0067		
Total	41	0,3077			
corregido					
PARCELA I					
Modelo	11	3,0832	0,2802	0,29	0,9852
Error	72	68,7382	0,9546		
Total	83	71,8214			
corregido					