

CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN
ENSEÑANZA
(CATIE)

PROGRAMA DE ENSEÑANZA PARA EL DESARROLLO Y LA
CONSERVACION

**REDUCCION DE LA SEVERIDAD DEL MOSAICO AMARILLO DEL
TOMATE MEDIANTE FERTILIZACION AL SUELO**

*Tesis sometida a la consideración del Comité Técnico Académico de Programa de
Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales del Centro
Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, para optar al grado de*

Magister Scientiae

Por

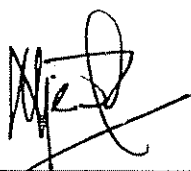
Mario Roberto Padilla Raudales

Turrialba, Costa Rica
1995

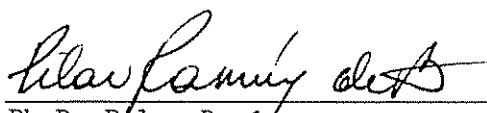
Esta tesis ha sido aceptada en su presente forma, por la Jefatura del Area de Postgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales del CATIE y aprobada por el Comité Asesor del estudiante como requisito parcial para optar al grado de:

MAGISTER SCIENTIAE

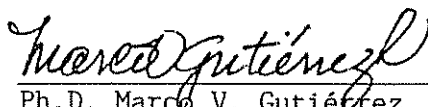
FIRMANTES:



Ph.D. Luko Hilje
Profesor Consejero




Ph.D. Pilar Ramírez
Miembro Comité Asesor



Ph.D. Marco V. Gutiérrez
Miembro Comité Asesor



Ph.D. Juan Antonio Aguirre
Jefe Area de Postgrado



Ph.D. Pedro Ferreira
Director, Programa de Enseñanza



Mario Roberto Padilla Raudales
Candidato

BIOGRAFIA

El autor nació en el municipio de Jano, Departamento de Olancho, Honduras C. A., el 2 de junio de 1964. Realizó sus estudios primarios en la Escuela María Garay y secundarios en el Instituto Honduras en el municipio de El Paraiso, obteniendo el título de Perito Mercantil y Contador Público en el año de 1983.

En el año 1984 inició sus estudios universitarios en el Centro Universitario Regional del Litoral Atlántico (CURLA) de la Universidad Nacional Autónoma de Honduras (UNAH), obteniendo en 1988 el título de Ingeniero Agrónomo.

Realizó su servicio social universitario en 1989 en el Instituto Hondureño del Café, en el campo experimental ubicado en El Paraiso, El Paraiso. En 1990 pasó a laborar con la Secretaría de Recursos Naturales, en el departamento de Agricultura como agente de extensión agropecuaria, de donde obtuvo una gran experiencia, desempeñándose principalmente en el área de capacitación y transferencia de tecnología.

En 1993 aplica para la maestría en Fitoprotección en el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) de Turrialba, Costa Rica, obteniendo una beca del Proyecto RENARM/MIP, ingresando al programa de maestría en enero de 1994. Durante 1994 y 1995 se desempeñó como estudiante asistente de investigación con el Proyecto MIP del CATIE, realizando su trabajo de tesis con el mismo. En diciembre de 1995 obtiene su título de *Magister Scientiae* en Agricultura Tropical Sostenible con énfasis en Fitoprotección.

DEDICATORIA

El presente trabajo representa el esfuerzo realizado durante estos dos años de estudio, y quiero dedicarlo de manera muy especial, a las personas que me brindaron toda su confianza y que constantemente me motivaron a seguir adelante. Gracias por todo el apoyo, les quiero mucho.

A mi madre María F. Raudales Ochoa

A mis hermanas Lourdes María Y Ena Lilian

A mi abuela Adela V. de Raudales

A mis tíos y primos

A Felicia María Oviedo

A la memoria de mi primo Arnoldo Noé Raudales Martínez (QEPD)

A mi querida patria Honduras.

Al hermoso país de Costa Rica y en especial al pueblo de Turrialba, por su gran hospitalidad.

“EL EXITO NO ES NUNCA UNA DONACION, SINO UNA CONQUISTA”

O. S. Marden.

AGRADECIMIENTOS

- A Dios, por guiar mis pasos e iluminar mi mente y haber permitido culminar con éxito esta meta.
- A la Secretaría de Recursos Naturales de Honduras, por el permiso concedido para la realización de mis estudios de maestría.
- Al Proyecto RENARM/MIP, por el financiamiento de mis estudios de maestría.
- Al Dr. Luko Hilje, por los conocimientos brindados, por su apoyo en todo momento en el desarrollo de este trabajo.
- A los doctores Pilar Ramírez y Marco Vinicio Gutiérrez de la Universidad de Costa Rica, por haber sido parte del comité asesor de tesis, por sus recomendaciones y las correcciones de este trabajo, y por todo los conocimientos brindados y el tiempo que me dedicaron.
- A la M. Sc. Floria Bertsch del Centro de Investigaciones Agronómicas, de la Universidad de Costa Rica y El M. Sc. Mario Saborío (Costasol S. A.), por sus orientaciones para el desarrollo de este trabajo y el tiempo brindado.
- Al Dr. Pedro Oñoro por sus orientaciones en el diseño del experimento y en el análisis de datos.
- A mis queridos profesores del Proyecto MIP, por todos los conocimientos impartidos y por su amistad.
- Al Dr. Nahum Marban, por sus valiosos conocimientos brindados y por su amistad.
- A todo el personal del proyecto MIP especialmente al M. Sc. Douglas Cubillo y el Sr. Guido Sanabria, por toda su colaboración. También a mi querida amiga Isabel Royo de cultivos tropicales, por su gran amistad.
- A todo el personal de la biblioteca Conmemorativa Orton, en especial a la Sra. Addys Mora y Javier Brenes, por su amabilidad y buena atención.
- Al personal del Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular (CIBCM) de la UCR, por toda su colaboración en especial al Sr. Alexis Serrano.

- Al personal del Centro de Documentación del MIP especialmente a Ana Guerrero.
- A mi gran amigo Pilar Enrique Suazo por compañerismo y amistad, también a mi compañero y amigo Oscar René Hernández Guerra por haber compartido juntos la habitación 14 de Siberia durante estos dos años.
- A todos mis compañeros de la promoción 1994-1995, de México, Centro y Sur América, ~~por haber compartido juntos momentos de tristezas y alegrías durante estos dos años.~~

TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
TABLA DE CONTENIDO.....	vii
RESUMEN.....	ix
SUMMARY.....	x
LISTA DE CUADROS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE ANEXOS.....	xiii
I INTRODUCCION.....	1
Objetivos.....	3
Hipótesis.....	3
II REVISION DE LITERATURA.....	4
2.1 Aspectos generales del cultivo del tomate.....	4
2.2 Fertilización del tomate.....	5
2.3 Principales plagas del tomate.....	7
2.4 La mosca blanca <i>Bemisia tabaci</i>	7
2.4.1 Clasificación biología y ecología.....	7
2.4.2 Biotipos.....	9
2.4.3 Hospedantes.....	10
2.4.4 Daños en tomate e importancia económica.....	11
2.5 Los geminivirus.....	13
2.6 Relación vector-virus-planta.....	14
2.7 Efecto de los virus en la fisiología de las plantas.....	15
2.8 Hibridación de ácidos nucleicos.....	17

2.9	Manipulación de la nutrición.....	18
2.10	Opciones de manejo del complejo <i>B. tabaci</i> -geminivirus.....	23
2.10.1	Combate químico.....	24
2.10.2	Combate biológico.....	25
2.10.3	Cultivares resistentes.....	26
2.10.4	Prácticas culturales.....	27
	Programación de la fecha de siembra.....	27
	Protección de almácigos.....	27
	Cultivos trampa.....	28
	Coberturas al suelo.....	28
III	MATERIALES Y METODOS.....	29
3.1	Ubicación del experimento.....	29
3.2	Manejo del cultivo.....	29
3.3	Tratamientos y diseño experimental.....	31
3.4	Inoculación.....	32
3.5	Variables de respuesta y análisis estadístico.....	33
a)	Índice de severidad.....	33
b)	Altura de plantas.....	33
c)	Concentración de nutrimentos en la planta.....	33
d)	Biomasa.....	35
e)	Concentración de ADN viral.....	35
f)	Rendimiento.....	39
g)	Análisis estadístico de los datos.....	40
IV	RESULTADOS.....	41
V	DISCUSION.....	56
VI	CONCLUSIONES.....	64
VII	RECOMENDACIONES.....	65
VIII	BIBLIOGRAFIA.....	66
IX	ANEXOS.....	79

PADILLA RAUDALES, M.R. 1995. Reducción de la severidad del mosaico amarillo del tomate mediante fertilización al suelo. Tesis Mag. Sci. Turrialba. CATIE. 90 p.

Palabras claves: Fertilización, N-P-K, *Bemisia tabaci*, geminivirus, tomate.

RESUMEN

En el invernadero se evaluó el efecto de la fertilización con N-P-K al suelo, para reducir la severidad del mosaico amarillo del tomate. Se trabajo con la var. Hayslip, de crecimiento determinado.

El almácigo se cubrió con la malla Agronet-S, por 30 días. En el invernadero se utilizó un diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial, con cuatro repeticiones. Los tratamientos fueron ocho dosis de N-P-K, resultantes de la combinación de 400 y 1200 kg/ha de nitrógeno, 600 y 1800 kg/ha de fósforo, y 300 y 900 kg/ha de potasio. Las plantas se inocularon con geminivirus 1 día después de trasplantadas (ddt). Los tratamientos se duplicaron (testigos sin inocular), pero fue imposible evitar que éstos se infectaran. Las dosis se aplicaron semanalmente durante 60 ddt, según la curva de absorción de nutrientes del cultivo. Se registraron la severidad de la enfermedad, altura y biomasa de la planta, concentración de nutrientes y ADN viral en el follaje, y rendimientos.

En todos los tratamientos se redujo la severidad de la enfermedad, sobresaliendo los dos con mayor cantidad de fósforo. Aunque en éstos los rendimientos fueron altos (1,10 y 1,14 kg/planta, respectivamente), la principal clase comercial estuvo poco representada.

PADILLA RAUDALES, M. R. 1995. Reducing tomato yellow mosaic severity through soil fertilization. Thesis Mag.Sci. Turrialba. CATIE. 90p.

Key words: Fertilization, N-P-K, *Bemisia tabaci*, geminivirus, tomato.

SUMMARY

The effect of soil fertilization with N-P-K on reducing tomato yellow mosaic severity was tested under greenhouse conditions, on Hayslip, a determinate-growth variety.

The seedbed was covered with Agronet-S for 30 days. In the greenhouse, a randomized complete block design with a factorial arrangement and four repetitions was used. There were eight treatments, resulting from the combination of 400 and 1200 kg/ha nitrogen, 600 and 1800 kg/ha phosphorus, and 300 and 900 kg/ha potassium. Plants were inoculated with geminivirus one day after transplanting (dat). Treatments were duplicated (controls without inoculation), but it was impossible to avoid their infection. Fertilizer doses were applied weekly during 60 dat, according to the crop's nutrient absorption curve. Disease severity, plant's height and biomass, nutrient and leaf viral DNA concentration, and yield were measured.

The disease severity was reduced in all treatments. The ones with higher levels of phosphorus showed higher yields (1.10 and 1.14 kg/plant, respectively). However, in both of them, the major commercial class was underrepresented.

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1	Promedios de altura e índice de severidad finales, según los tratamientos inoculados deliberadamente (INOC) y accidentalmente (ACC).....	43
2	Promedio del peso seco (g/planta) por estructura, según los tratamientos inoculados deliberadamente (INOC) y accidentalmente (ACC).....	46
3	Concentración foliar de nutrimentos a los 33 ddt, en tratamientos inoculados deliberadamente.....	49
4	Promedios del rendimiento (g/planta) y por clases de frutos, en tratamientos inoculados deliberadamente (INOC) y accidentalmente (ACC).....	53

LISTA DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Promedios de altura (A) e índice de severidad (B), durante el experimento, para tratamientos inoculados deliberadamente (INOC) y accidentalmente (ACC). Datos consolidados de ocho tratamientos.....	42
2	Promedios del peso seco de varias estructuras, según los tratamientos en plantas inoculadas deliberadamente (A) y accidentalmente (B).....	45
3	Promedios de concentración de nutrimentos en el follaje, durante el experimento. Datos consolidados de ocho tratamientos.....	50
4	Promedios del rendimiento, según las clases de frutos, para tratamientos inoculados deliberadamente (A) y accidentalmente (B).....	52
5	Distribución temporal de la cosecha de tomate por clases de frutos, para los tratamientos inoculados deliberadamente (A) y accidentalmente (B). Datos consolidados para todos los tratamientos.....	54
6	Promedios de concentración de ADN viral, según tratamientos inoculados deliberadamente (A) y accidentalmente (B).....	55

LISTA DE ANEXOS

Anexo		Pág.
1	Análisis químico del suelo, previo a la siembra del experimento.....	80
2	Volumen diario de agua de irrigación para plantas de tomate cv. Hayslip, en el invernadero.....	80
3	Distribución de las dosis de N-P-K (g/planta) a través del tiempo, estimando una densidad de 33,000 plantas/ha.....	81
4	Curva de absorción de nutrimentos en tomate a través del tiempo para nitrógeno (A), fósforo (B) y potasio (C).....	82
5	Esquema de procedimiento de detección de ADN viral, del mosaico amarillo del tomate mediante el método de hibridación de ácidos nucleicos con sondas frías.....	83
6	Promedio diario de datos climatológicos registrados durante el experimento, fuera (A) y dentro del invernadero (B,C).....	84
7	Altura promedio (cm) de plantas de tomate cv. Hayslip, de tratamientos inoculados deliberadamente (INOC) y accidentalmente (ACC) en el invernadero.....	85
8	Promedio del índice de severidad, según tratamientos inoculados deliberadamente (INOC) y accidentalmente (ACC).....	86
9	Concentración foliar de nutrimentos (%) en los tratamientos inoculados deliberadamente, a través del tiempo.....	87
10	Concentración foliar de nutrimentos (ppm) en los tratamientos inoculados accidentalmente, a través del tiempo.....	87
11	Tabla para interpretación de valores nutricionales de la planta de tomate a mediados de la floración, según Benton <i>et al.</i> (1991).....	88
12	Concentración relativa de ADN viral a través del tiempo en todos los tratamientos inoculados deliberadamente y dos accidentalmente.....	88

I INTRODUCCION

En América Central y el Caribe el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) tiene gran importancia, tanto en el aspecto económico como nutricional (IICA 1991, CATIE 1990).

De sus plagas, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) es actualmente la más importante mundialmente (Hilje y Arboleda 1993). Su ciclo corto permite que alcance altas poblaciones (Hilje 1995), y es un insecto muy polífago, con más de 500 hospedantes, la mayoría silvestres (Greathead 1992, Brown 1992). Por otra parte, el corto tiempo en que *B. tabaci* puede adquirir geminivirus y la velocidad con que los disemina, la hace ser eficiente en su transmisión (Lastra 1992). El principal daño indirecto que produce *B. tabaci* es como vector de muchos virus, entre los que sobresale el mosaico amarillo del tomate, el cual provoca disminuciones significativas en los rendimientos, y en muchas situaciones causa grandes pérdidas económicas (Lastra 1992, Brown 1992).

El uso de insecticidas sintéticos es el método más utilizado en el combate de *B. tabaci*. Sin embargo, no se ha logrado su control eficiente, ya que los pocos adultos que logran escapar a dicha medida de control, más la existencia muy próxima de plantas infectadas con el geminivirus, bastará para continuar con la propagación del mismo al resto de la plantación (Hilje 1994, Schuster *et al.* 1989). De suceder la infección durante el periodo crítico del cultivo, que es de aproximadamente de 50-60 días después de la germinación (Acuña 1993, Franke *et al.* 1983.), las plantas serán seriamente afectadas.

Por lo anterior, se hace necesario buscar tácticas orientadas a retardar la enfermedad o a disminuir su severidad, especialmente durante el periodo crítico. En los primeros 30 días se pueden producir plantas sin geminivirus, al cubrir los semilleros con mallas finas (Cubillo *et al.* 1994, Quirós *et al.* 1994, Rivas *et al.* 1994). En los siguientes 30 días se podría realizar otro tipo de manejo, basado en el fortalecimiento nutricional de la planta con un régimen de fertilización diferente del convencional. Se ha observado que productores de tomate en Grecia, Costa Rica (Nelson Kopper 1994, MAG, com. pers), y

en Comayagua, Honduras (Pilar Suazo 1994, CATIE com. pers.), han logrado obtener buenos rendimientos (30-40 t/ha, aproximadamente) aún con alta incidencia y severidad de virosis, mediante el suministro de dosis altas de fertilizantes (fórmula completa y urea) a intervalos más frecuentes entre aplicación.

La fertilización incrementa la tolerancia a la mayoría de enfermedades producidas por patógenos, permitiendo que las plantas utilicen con mayor rapidez sus mecanismos de defensa. (Agrios 1988, Huber 1994). La nutrición mineral determina en gran medida la resistencia o susceptibilidad de las plantas a las enfermedades, y la capacidad de los patógenos a sobrevivir. Los nutrimentos son necesarios para la síntesis de barreras físicas y químicas, y la ubicación de elementos alrededor de los lugares de infección para evitar que ésta progrese.

La influencia de los nutrimentos minerales sobre las enfermedades virales ha sido poco estudiada (Martin 1976). Por ejemplo, la nutrición de plantas de tabaco infectadas con el virus del mosaico del tabaco (TMV) redujo la severidad del virus, aumentó el crecimiento de la planta e hizo más eficiente el uso de los nutrimentos (Kaplan y Bergman 1985). No existen estudios acerca de la influencia de la nutrición mineral sobre la severidad del mosaico amarillo del tomate. Por tanto, con esta investigación se pretendió conocer si la aplicación fraccionada de dosis altas de N-P-K, atenúa la severidad de dicha enfermedad.

OBJETIVOS

Reducir la severidad del daño del mosaico amarillo del tomate, mediante la aplicación fraccionada de fertilizante al suelo.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Determinar el efecto de la fertilización con N-P-K sobre la severidad del daño viral.

Determinar la eficacia de varias combinaciones de N-P-K en la atenuación de la severidad del daño viral.

HIPOTESIS

La aplicación de fertilizantes al suelo durante etapas claves del cultivo, atenúa la severidad del mosaico amarillo del tomate.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 Aspectos generales del cultivo del tomate

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (Solanaceae) es originario de América. Posee tallos herbáceos y ramificados, sus hojas son alternas, con bordes dentados y cubiertas por tricomas o pelos. La inflorescencia está compuesta por un racimo de cuatro a cinco flores amarillas, con cinco o más lóculos. El fruto es una baya dividida en dos o más secciones conteniendo las semillas, y maduro es rojo o amarillo; hay diferentes formas de éstos (Anderlini 1970, Gallegos y Dutari 1980).

Por su hábito de crecimiento, los cultivares de tomate se clasifican en determinados o indeterminados. Los primeros son de tipo arbustivo, de porte bajo y compacto, con inflorescencias apicales; las etapas fenológicas del cultivo están bien definidas, y la producción de frutos se concentra en periodos relativamente cortos. Los segundos poseen inflorescencias laterales y su crecimiento vegetativo es constante; la floración, fructificación y cosecha se prolongan por periodos extensos (CATIE 1990).

El tomate se puede sembrar por siembra directa o por trasplante. La principal ventaja del primer sistema es que evita el estrés inherente al trasplante. La desventaja reside en el manejo inicial del cultivo, cuando se requiere más mano de obra (Gallegos y Dutari 1980). En el sistema por trasplante hay un mejor manejo de la fertilización, riego y combate de plagas, pudiendo producirse plantas con un buen estado fisiológico durante los primeros 22-30 días que permanecen en el semillero (Gallegos y Dutari 1980).

Costa Rica es el único país de América Central y el Caribe donde predomina la siembra directa (Hilje 1993). La producción se concentra en pequeños agricultores, con un área promedio de 3 ha y un área total aproximada de 1000 ha. Los rendimientos promedio son de 21-38 t/ha y el consumo *per capita* de 0,349 kg (IICA 1991). No se cultiva tomate industrial, sino únicamente para consumo fresco. En los demás países de la región se

siembra por trasplante, para consumo fresco. Predominan los pequeños agricultores, con áreas promedio de 0,5-3 ha, y el consumo *per capita* anual es de 11 kg. No obstante, en ellos hay producción dedicada a la industria de pastas, jugos, purés y concentrados, con áreas desde 600-5000 ha, utilizando altos niveles de tecnología (CATIE 1990, IICA 1991).

2.2 Fertilización del tomate

Una buena fertilización se basa en los requerimientos nutricionales del cultivo, en la cantidad de nutrimentos en el suelo y aporta los nutrimentos en las cantidades y épocas en que el cultivo los necesita (CATIE 1990). En América Central, los rendimientos de 5-7 t/ha indican que existen problemas nutricionales (CATIE 1990).

En Costa Rica (MAG 1983) se recomienda hacer cuatro aplicaciones de fertilizante por hectárea al suelo, en tomate de siembra directa, así: a la siembra, con 50-150-50-35 kg/ha (N-P₂O₅-K₂O-SO₄); a los 30 días después de la siembra (dds), con 75-225-75 kg/ha (N-P₂O₅-K₂O); a los 60 dds, con 70-20-50-20-10 kg/ha (N-P₂O₅-K₂O-MgO-B₂O₃); y a los 110 dds con 70 kg/ha de N. Así se pueden producir 30-40 t/ha. Si se siembra por trasplante, se recomienda aplicar, por hectárea, a los 15 días después del trasplante (ddt), 182-273 kg de fórmula 18-6-12; a los 30 ddt, 136-182 kg de fórmula 18-6-12; a los 45 y 60 ddt, 61-82 kg de urea (46% N). Así se pueden producir 30-40 t/ha. Dichas recomendaciones se basan en las tres etapas fenológicas del cultivo: desarrollo vegetativo, floración y fructificación (CATIE 1990), según la demanda de nutrimentos.

Una curva de absorción de nutrimentos representa las cantidades que son extraídas por la planta, de los diferentes elementos existentes en el sustrato, durante su ciclo de vida (Bertsch y Guzmán 1981). Existe gran correlación entre las curvas de crecimiento de la planta y las curvas de absorción. Si no se cuenta con curvas de absorción, la de crecimiento puede ser una guía confiable en la definición de las épocas de fertilización (Bertsch y Guzmán 1981).

En toda curva de absorción hay dos fases. En la primera ocurre una rápida absorción, y los iones absorbidos no presentan carácter acumulativo. La segunda es más lenta y de carácter lineal (Barceló *et al.* 1983). Durante las primeras etapas de crecimiento de la planta de tomate, la nutrición se torna crítica. De ahí la importancia de la fertilización inicial, ya que de presentarse deficiencias nutricionales en esta etapa, la planta retrasará su crecimiento normal (Wilcox y Langston 1960).

Por otra parte, los macro y micronutrientes ejercen funciones específicas en la vida de la planta. Estas se clasifican en dos grandes grupos. Las estructurales se refieren a cuando los elementos forman parte de la molécula de uno o más compuestos orgánicos, como proteínas (aminoácidos), pectatos (estructura de la lámina media de la pared celular) y clorofila. Otra función es como constituyentes y activadores enzimáticos, que ayudan a la catálisis de reacciones químicas (Malavolta 1989).

En cuanto a la importancia del N-P-K, el nitrógeno es importante en el crecimiento y desarrollo del cultivo, ya que forma parte de la estructura de la molécula proteica, es constituyente de las bases nitrogenadas de los ácidos nucleicos (ADN y ARN), y forma parte de la clorofila. Tiene gran movilidad, lo que significa que los síntomas de su deficiencia, como amarillamientos o clorosis, que son consecuencia de la disminución en el contenido de clorofila, aparecen primero en hojas más maduras (Salisbury y Ross 1992).

El fósforo forma parte de los ácidos nucleicos, fosfolípidos (constituyentes de la membrana celular), de las coenzimas NAD y NADP, y es parte fundamental del ATP, clave en el metabolismo de la planta. Se encuentra principalmente en los tejidos meristemáticos, donde interviene en la síntesis de nucleoproteínas. Tiene gran movilidad. Favorece el desarrollo radicular, la fecundación, formación y maduración de frutos (Bould *et al.* 1983).

El potasio es importante como activador de muchas enzimas que son esenciales en la fotosíntesis, respiración, formación de almidones y aminoácidos; además, ayuda a mantener la presión de turgencia de la célula y es regulador de la apertura y cierre estomático, lo cual permite un eficiente uso de las reservas de agua del suelo, y reduce los efectos del déficit hídrico (Malavolta 1989, Salisbury y Ross 1992).

2.3 Principales plagas del tomate

En Costa Rica, los insectos más importantes por su presencia permanente y la magnitud del daño son la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) (Homoptera: Aleyrodidae), especialmente como vector de geminivirus, el gusano alfiler (*Keiferia lycopersicella*) (Lepidoptera: Gelechiidae) y los gusanos del fruto (Lepidoptera: Noctuidae), especialmente *Heliothis zea* (Evo y Hilje 1993, Calvo *et al.* 1994).

Los patógenos importantes son el tizón tardío (*Phytophthora infestans*), pringue bacterial (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) y tallo hueco (*Erwinia* sp.) (Calvo *et al.* 1994).

2.4 La mosca blanca, *B. tabaci*

2.4.1 Clasificación, biología y ecología

El conocimiento de la clasificación y biología de *B. tabaci* es fundamental para comprender mejor la epidemiología de la enfermedad del mosaico amarillo del tomate, así como para distinguir especies y biotipos entre sí (Bink-Moenen y Mound 1990).

La mayoría de especies de mosca blanca no pueden ser identificadas por las características morfológicas del adulto, sino por las del cuarto instar ninfal (Mound 1984, López-Avila 1992).

B. tabaci pertenece al orden Homoptera, suborden Stenorrhyncha, superfamilia Aleyrodoidea, familia Aleyrodidae y subfamilia Aleyrodinae (Bink-Moenen y Mound 1990, López-Avila 1992). Hay casi 1200 especies descritas (Bink-Moenen y Mound, 1990).

La hembra ovíparita en forma aislada o en grupos, y los huevos son insertados en el envés de la hojas jóvenes especialmente (van Lenteren y Noldus 1990), sujetos por un pedicelo. Son elípticos, miden 0,2-0,3 mm e inicialmente son blancos, pero al aproximarse la eclosión se tornan marrón (King y Saunders 1984). La hembra deposita 48-394 huevos, con un promedio de 75, según las condiciones climáticas, los cuales eclosionan en 5-10 días (Azab *et al.* 1972, Eichelkraut y Cardona 1989, Byrne y Bellows 1991).

El insecto posee aparato bucal perforador-chupador y presenta metamorfosis incompleta, con tres estadios: huevo, ninfa y adulto (Byrne y Bellows 1991). Las ninfas presentan cuatro estadios (instares), siendo móvil el primero y los demás sésiles. Todos se alimentan de la savia del hospedante, con excepción del último, al cual se le llama "pupa", ya que tiene una etapa de reposo, durante la que no se alimenta (Byrne y Bellows 1991).

El adulto mide 1-2 mm, es blanco, con alas de forma triangular y una cubierta cerosa. La hembra es más grande. Los adultos no son voladores eficientes, pero pueden ser desplazados a grandes distancias por el viento, aumentando el riesgo de la dispersión de la especie (Byrne y Bellows 1991). Únicamente el adulto es vector de virus (Brown y Bird 1992).

Su ciclo de vida está correlacionado con las condiciones climáticas y las características de la planta hospedante (López-Avila 1992). Completa su ciclo de vida en 26,9 días a 15-25 °C, y en 21 días a 25-35 °C (Gerling *et al.* 1986). No obstante, Coudriet *et al.* (1985) encontraron que lo hace en 27,3 días a 26,7 °C. Por otra parte, Eichelkraut y Cardona (1989) determinaron que el ciclo en frijol, en invernadero a 26 °C y 67 % HR fue de 25,3 días, y en el campo con 24 °C y 70% HR de 28,3 días. Ellos determinaron que el

huevo en el campo dura 5,4 días, y los instares I, II, III, y IV duran 4,3, 4,7, 5,9, y 13,1 días promedio, respectivamente. Las hembras viven 14,1 o 19,02 días y los machos 11,1 o 19,38, en promedio (Eichelkraut y Cardona 1989, Salas *et al.* 1993). Los promedios anteriores varían en otras zonas, de 8-61,5 días para las hembras y 3-34 días para los machos (Gerling *et al.* 1986).

Pueden completar 11-15 generaciones en un año (van Lenteren y Noldus 1990). En forma general, las hembras viven más tiempo (Mound 1983). Aun no se conoce el porcentaje de hembras fertilizadas. Pero, es de suponer que la mayoría se encuentran fertilizadas, ya que es usual encontrar a ambos sexos juntos a una proporción de sexos de 1:1. Además, la hembra se puede reproducir sin necesidad de ser fertilizada, por partenogénesis arrenotóquica, con la que se obtiene descendencia solo masculina (Gerling *et al.* 1986, Eichelkraut y Cardona 1989, van Lenteren y Noldus 1990, Byrne y Bellows 1991).

Las altas temperaturas y las bajas precipitación y humedad relativa permiten que las poblaciones se incrementen exponencialmente (Byrne y Bellows 1991). En la estación lluviosa disminuyen, debido al efecto mecánico de la lluvia sobre los adultos, y a la alta humedad relativa, que afecta severamente a los huevos y primeros instares ninfales (Gerling *et al.* 1986, Hilje 1995).

2.4.2 Biotipos

Debido a su gran plasticidad genética, *B. tabaci* muestra gran habilidad para originar nuevas razas o biotipos. Estos son poblaciones con características morfológicas idénticas a la especie original, pero con diferencias biológicas en su capacidad reproductiva, de sobrevivencia, colonización de hospedantes, etc. (Bush 1993, Brown 1993). Existen muchos biotipos en el plano mundial (Brown 1994, Brown *et al.* 1995a).

Las evidencias indican que anteriormente predominaba en EE.UU., México y el Caribe el biotipo A, llamado "raza del algodón". Sus hospedantes son el algodón, frijol, cucurbitáceas (sandía, calabaza y melón) y plantas silvestres. El biotipo B, llamado "raza de la poinsettia", es considerado por algunos autores como una nueva especie, *B. argentifolii* (Bellows *et al.* 1994), aunque aún existen discrepancias (Brown *et al.* 1995b). Se hospeda en algodón, frijol, cucurbitáceas (sandía, calabaza y melón), tomate, chile dulce, lechuga, crucíferas (brócoli y coliflor), uva, cítricos, papaya, así como varias plantas ornamentales y silvestres. Además, posee mayor fecundidad que el A y provoca alteraciones fitotóxicas, como el síndrome de la hoja plateada en calabaza y la maduración irregular del tomate (Brown *et al.* 1992, Brown 1993).

En América Central y el Caribe, además de esos dos biotipos, hay al menos cinco, según sus patrones diferenciales de isoenzimas, hospedantes y las alteraciones fitotóxicas que causan. Se denominan C, D, F, G y N, según su orden de descubrimiento (Brown 1993, Brown *et al.* 1995b). De ellos, en Costa Rica predomina el C en tomate, donde prácticamente no se reproduce, pero actúa como un importante vector de geminivirus (Hilje *et al.* 1993a, Brown 1994).

2.4.3 Hospedantes

Las plantas hospedantes juegan un papel de gran importancia en la sobrevivencia de *B. tabaci*, cuando las condiciones son desfavorables (Cohen *et al.* 1966). Es así que los hospedantes de hojas persistentes permiten a los primeros estadios sobrevivir en esas condiciones. Tanto cultivos comerciales como plantas silvestres le sirven de refugio o fuente de alimento (Coudriet *et al.* 1985).

B. tabaci es muy polífaga, y se asocia con más de 500 especies, la mayoría silvestres, pertenecientes a 74 familias (Greathead 1992, Brown 1993). Entre ellas destacan Amaranthaceae, Compositae, Convolvulaceae, Euphorbiaceae, Leguminosae, Malvaceae, Moraceae, Portulacaceae, Solanaceae, Umbelliferae, Rubiaceae,

Asclepiadaceae, Labiatae, Capparidaceae, y Chenopodiaceae (Naresh y Nene 1980, Brown 1993, Hilje 1995).

En Mesoamérica y áreas vecinas se ha comprobado que existen hospedantes silvestres y ornamentales, con 55 especies y 21 familias (Hilje 1995). En Costa Rica se han encontrado adultos en 40 especies de plantas silvestres y ornamentales pertenecientes a 13 familias (Arias y Hilje 1993). Se destaca la preferencia por especies de Solanaceae, como el tomate (*Lycopersicon esculentum*), tabaco (*Nicotiana tabacum*), chile dulce (*Capsicum annuum*); de Cucurbitaceae, como el pepino (*Cucumis sativus*), melón (*C. melo*), ayote (*Cucurbita moschata*) y sandía (*Citrullus lanatus*); de Leguminosae, como el frijol (*Phaseolus vulgaris*); y de Malvaceae, como el algodón (*Gossypium hirsutum*) (Hilje *et al.* 1993a). Además de estos cultivos el biotipo B ataca a las crucíferas brócoli y coliflor (*Brassica oleracea*), lechuga (*Lactuca sativa*), uva (*Vitis vinifera*), cítricos (*Citrus* spp.) y papaya (*Carica papaya*).

En Costa Rica, *B. tabaci* casi no se reproduce en tomate (Arias & Hilje 1993), pero los geminivirus que transmite causan severos daños al cultivo, mientras que en chile dulce se reproduce masivamente sin que se observen síntomas de virosis (Hilje *et al.* 1993a). En zonas productoras de ambos cultivos se examinaron 19 especies de plantas silvestres que tenían síntomas de virosis o adultos de *B. tabaci*, en 14 de las cuales se detectaron geminivirus, aunque solo cuatro mostraban síntomas: *Bidens pilosa*, *Desmodium* sp., *Sida rhombifolia* y *Spermacoce latifolia* (Rivas *et al.* 1995b).

2.4.4 Daños en tomate e importancia económica

B. tabaci es una plaga de mucha importancia económica, por las pérdidas que se derivan de las enfermedades que producen los virus que transmite. En zonas tomateras de Honduras, desde 1989 la producción se ha concentrado exclusivamente en las grandes compañías, únicas capaces de poder asumir los altos costos en la búsqueda de opciones de control; hay casos de pequeños agricultores que han abandonado el cultivo y dedicado a

otras actividades (Sponagel y Fúnez, 1994). En zonas tomateras de Costa Rica se observó que altas poblaciones de mosca blanca estaban asociadas con la transmisión de virus en el tomate, provocando pérdidas de más de 3 ha de extensión en algunas zonas, mientras en otras se perdieron 150 ha de tomate y 20 ha de sandía debido a la virosis (Hilje *et al.* 1993b).

En el Valle de Sébaco, Nicaragua, en el ciclo 1990-1991 se reportaron reducciones en la cosecha de tomate en 20-50%, mientras que en 1991-1992 las pérdidas variaron entre el 30-100%. En estos dos ciclos de producción las áreas de siembra se redujeron hasta en 60%, en comparación con el ciclo 1989-1990, por causa de la virosis (Comisión Nacional de Mosca Blanca 1993).

En República Dominicana, en 1991 hubo pérdidas en tomate industrial y melón por más de US\$ 10 millones, causada por el fuerte ataque de geminivirus (Alvarez *et al.* 1993).

Las ninfas y adultos de *B. tabaci* producen daños directos o indirectos. Los primeros se presentan al extraer los nutrimentos de la savia, introduciendo el estilete en la hoja y causando alteraciones en el desarrollo de la planta, lo cual disminuye los rendimientos y la calidad de los frutos (Byrne y Bellows 1991). Causan daños al alimentarse, reduciendo la tasa neta de fotosíntesis y la transpiración, lo cual produce un incremento del cierre estomático, además se reduce el contenido de clorofila y el peso de la hoja (Buntin *et al.* 1993). El daño de las ninfas es mayor que el de los adultos, ya que reduce el intercambio de gases de las hojas. La fotosíntesis en tomate se reduce por la restricción del intercambio de gases por los estomas, por la reducción del contenido de clorofila y la capacidad fotosintética (Buntin *et al.* 1993). Además, ambos estadios producen mielcilla, que al caer sobre las hojas sirve de sustrato para el crecimiento del hongo llamado fumagina (*Capnodium* spp.), lo cual interfiere con la fotosíntesis y respiración, reduciendo los rendimientos (Byrne y Bellows 1991).

Sin embargo, el daño más importante es el indirecto, por medio de la transmisión de enfermedades virales, provocadas principalmente por geminivirus. Dichas enfermedades pueden reducir hasta en 100% los rendimientos, si la infección se produce en los primeros 40-50 días (Lastra 1993).

2.5 Los geminivirus

Reconocidos desde 1974, estos fitovirus atacan dicotiledóneas, principalmente. Son transmitidos por insectos, especialmente por homópteros, entre los que sobresalen las moscas blancas (Aleyrodidae), saltahojas (Cicadellidae) y algunos Membracidae; su principal vector es *B. tabaci* (Harrison 1985).

Su nombre se deriva del griego *gemi*= gemelos, por estar formados por dos partículas virales isométricas, de 20x30 nm (Bock 1982). Están constituidos por nucleoproteínas, con 80% de proteína y 20% de ADN. Los transmitidos por *B. tabaci* contienen dos moléculas de ADN de banda simple (ADN-A y ADN-B), cada una de 2265-3200 nucleótidos, según el geminivirus (Stanley 1985). La primera determina la multiplicación viral, y la segunda su translocación en la planta (Elmer *et al.* 1988, Nouery *et al.* 1994). Para causar la infección, ambas deben permanecer unidas (Davies y Stanley 1989, Gilbertson *et al.* 1991).

Se multiplican en el núcleo de las células del floema, formando masas densas (Lastra 1993, Bock 1982). La sintomatología típica en tomate incluye el amarillamiento generalizado en la planta, clorosis internerval, seguida de un enanismo marcado, y encrespamiento severo, principalmente en el follaje nuevo (Lastra 1993).

B. tabaci transmite 19 tipos de virus, de los cuales 15 son geminivirus (Brunt 1992). Hasta ahora, se ha publicado la secuencia de unos 14 geminivirus transmitidos por dicho insecto (Ramírez y Maxwell 1994).

Se caracterizan por su diversidad molecular. Distintos geminivirus pueden infectar el mismo cultivo en diferentes regiones geográficas (Ramírez y Maxwell 1994). En tomate, en América Central se han hallado cuatro: el ToGVGA I, ToGVGA II y ToGVGA III (denominados tentativamente geminivirus del tomate de Guatemala, razas I, II y III), y el ToYMV (Virus del Mosaico Amarillo del Tomate) (Douglas P. Maxwell 1995, University of Wisconsin-Madison, com. pers.). El último, hallado en Costa Rica, difiere incluso filogenéticamente de los otros (Nakhla *et al.* 1994). A la República Dominicana y otros países caribefios ingresó recientemente el TYLCV (Polston *et al.* 1994). En México están el virus chino del tomate (CdTV), serrano golden mosaic (SGMV), pepper mild tigré (PMTV), y el rizado de la hoja de tomate de Sinaloa (STLCV) (Green y Kalloo 1994).

2.6 Relación vector-virus-planta

B. tabaci transmite geminivirus en forma persistente circulativa, por lo que es extraído de una planta enferma y circula dentro del vector hasta llegar a las glándulas salivales, para poder ser transmitido (Lastra 1993).

Para virus asociados con el mosaico amarillo del tomate, el periodo de adquisición es de 2 h en Venezuela (Uzcátegui y Lastra 1978) y 4 h en Costa Rica (Bonilla 1995); para el TYLCV es de 30 min (Cohen y Nitzany 1966). El periodo de latencia generalmente es de 24 h, y la transmisión suele ser intermitente, de 10-20 días (Uzcátegui y Lastra 1978, Lastra 1993, Bonilla 1995). Tanto el TYLCV como el mosaico amarillo del tomate (ToYMV) se translocan por toda la planta de tomate en menos de 24 h después de la inoculación (Ber *et al.* 1990, Rivas *et al.* 1995a); en ambos casos parece haber un gradiente de replicación y transporte, que hace que el virus se desplace continuamente hacia tejidos nuevos.

En tomate, la curva de la epidemia es típicamente sigmoidea (Hilje *et al.* 1993a). El avance de la enfermedad es mayor durante la fase de mayor crecimiento del cultivo, y si las parcelas nuevas están cerca de parcelas viejas, donde el inóculo es alto, se acelera más

desde el principio (Quirós *et al.* 1994); ello quizás se deba a la alta proporción inicial de adultos virulíferos.

En la siembra directa, aunque las plantas siempre están expuestas al vector, los síntomas se expresan claramente a los 45-50 días después de la siembra (dds) (Asiático y Zoebisch 1992, Arias y Hilje 1993). En la siembra por trasplante lo hacen a los 15-19 días después del trasplante (ddt), lo cual equivale a los 45-50 dds (Amador y Hilje 1993). Dicha constancia sugiere que la expresión de los síntomas depende fuertemente de la fisiología de la planta (Hilje *et al.* 1993a). La susceptibilidad de la planta de tomate a geminivirus es disminuye con su edad (Lastra 1993). La mayor susceptibilidad (periodo crítico) comprende aproximadamente 40-50 dds (Franke *et al.* 1983, Acuña 1993).

2.7 Efecto de los virus en la fisiología de las plantas

La translocación de los virus en las plantas se relaciona con el tipo de tejidos donde se localizan. Algunos están en el floema (la mayoría de geminivirus), el parénquima o xilema. Las partículas virales se desplazan a través de estructuras tubulares (plasmodesmos), de aproximadamente 20-30 nm de diámetro, que unen el citoplasma de una célula con otra (Smith 1972, Zaitlin y Hull 1987). Sin embargo, los plasmodesmos normales, en plantas sanas, no permiten el tránsito de material infeccioso, por lo que el geminivirus codifica una proteína que posiblemente modifica la estructura del plasmodesmo, para que se efectúe el movimiento intercelular de éste (Fraser 1987, Godefroy-Colburn *et al.* 1990).

Inicialmente el desplazamiento es lento, debido a que se realiza de célula a célula. Pero una vez ubicados en los tejidos conductores, el movimiento es más rápido, ya que viajan hacia la raíz por el xilema y ascienden a la parte aérea a través del floema (Fraser 1987, Agrios 1988, Hull 1989). Después de ser el geminivirus inoculado en plantas sanas, se desencadena una serie de eventos que causan el síndrome o enfermedad. En primer término, el virus pierde su cubierta proteica, luego induce a la célula a la síntesis de

enzimas denominadas ADN polimerasas, que sirven para la multiplicación del virus. Una vez que el virus ha expresado su potencial genético se inicia la dispersión de célula a célula y a través de toda la planta (Fraser 1987, Agrios 1988, Hull 1989).

Según las condiciones fisiológicas del hospedante, hay diferentes respuestas de éste a la infección. Entre ellas se encuentran la total inmunidad al virus, al no replicarse aunque haya entrado a la célula. Otra es que el virus se replica al iniciar la infección de las células, pero no se mueve hacia las células vecinas. Otra más es la total susceptibilidad, en que la mayoría de las células se infectan (Zaitlin y Hull 1987).

El ADN viral es el único determinante de la enfermedad. Sin embargo, su sola presencia en una planta, aún en grandes cantidades, no parece causar la enfermedad. Hay plantas que a pesar de tener una concentración mayor de virus, muestran síntomas más leves que otras con baja concentración (Agrios 1988). Esto indica que las enfermedades virales no son causadas exclusivamente por el agotamiento de los nutrientes que el virus utiliza para automultiplicarse (Agrios 1988); existen otros factores más indirectos del virus sobre el metabolismo del hospedante, como son la reducción e inhibición de los principales procesos fisiológicos de la planta (Agrios 1988).

Por la localización de la infección viral en el floema, las células infectadas alteran su metabolismo, dando origen a la producción de partículas virales, que causan graves daños, pues afectan la mayoría de los procesos vitales de la planta. Así, se reduce sustancialmente el contenido de proteínas y de clorofila debido a aberraciones o deformaciones que sufren los cloroplastos, lo que provoca amarillamientos y mosaicos foliares. Como consecuencia de la síntesis del ADN viral y la proteína viral la cantidad de azúcares y almidones se reduce, al igual que la tasa neta de fotosíntesis, y se incrementa la respiración celular (Leal y Lastra 1984, Hull 1987). También se reducen la cantidad de reguladores de crecimiento (hormonas) de la planta, y frecuentemente inducen a un aumento de las sustancias inhibitorias de crecimiento, lo que ocasiona enanismo, reducción del área foliar y abarquillamiento del follaje (epinastia). También disminuye el

nitrógeno soluble durante la rápida síntesis del virus, así como el nivel de carbohidratos, drásticamente (Agrios 1988).

De todos los daños que los geminivirus provocan a las plantas, las perturbaciones en la fotosíntesis son las más importantes, pudiendo reducir en 75-80% la capacidad fotosintética de la planta infectada (Goodman *et al.* 1967). Todo ello repercute en los rendimientos, y en muchos casos hasta causa la muerte de la planta, si es infectada durante sus primeras etapas fenológicas (Leal y Lastra 1984).

2.8 Hibridación de ácidos nucleicos

Una de las técnicas moleculares de detección de geminivirus más utilizadas y versátiles es la hibridación del ADN viral (Robinson 1988), la que se basa en la complementariedad de dos bandas de ácidos nucleicos, que al reaccionar forman un híbrido o dúplex (Krap 1987, Robinson 1988). La capacidad de hibridación de los ácidos nucleicos complementarios es la base para desarrollar métodos de diagnóstico de virus y viroides (Salazar 1990). Dichas pruebas de hibridación son muy sensibles y específicas para el diagnóstico viral (Robinson 1988).

Esta técnica necesita usar un soporte sólido, como membranas de nylon o nitrocelulosa, sobre la cual se coloca la muestra vegetal por identificar, esta se fija a la membrana covalentemente a 80°C (Salazar 1990). Previamente a aplicar la sonda se hace una prehibridación con la misma solución amortiguadora de hibridación, para sellar todos los espacios no utilizados por el ADN viral en la membrana y evitar que la sonda se adhiera en dichos espacios (Querci 1990).

Se pueden emplear sondas radioactivas marcadas con ^{32}P . Sin embargo, se pueden utilizar métodos no radiactivos (sondas frías), como la digoxigenina (Genius Kit, Boehringer Mannheim) y biotina (PhotoGene Nucleic Acid Systems, Gibco BRL). Según los objetivos del trabajo a realizar, se pueden efectuar las pruebas en condiciones de alta o baja "astringencia", lo cual permite una mayor o menor especificidad de diagnóstico, respectivamente. A mayor

astringencia, solo el virus que se desea detectar o algún otro muy estrechamente relacionado es detectado; a baja astringencia, otros virus con menor grado de relación, pueden detectarse.

En sondas marcadas con biotina se requiere la presencia de un conjugado específico que se une a la biotina y está unido a una enzima. Para revelar o visualizar la presencia del conjugado y la biotina se utiliza un sustrato de la enzima apropiado, el cual produce una reacción que es detectada mediante una película para rayos X (Querci 1990). En sondas radiactivas se reducen los lavados y no es necesario ningún sustrato, ya que con solo la radiactividad emitida se puede hacer la detección en el papel para rayos X (Querci 1990, Macquaire *et al.* 1991).

Los resultados son positivos si aparecen manchas negras en la película, lo que revela la presencia de geminivirus en la muestra analizada (Salazar y Querci 1992). Este método es muy específico y práctico, pero requiere materiales, equipos y personal especializado (Pilar Ramírez 1995, UCR, com. pers.).

2.9 Manipulación de la nutrición

Los factores que determinan la resistencia de las plantas a los patógenos pueden ser fisiológicos, ligados íntimamente al protoplasma de las plantas, y morfológicos, relacionados con las propiedades físicas y químicas de sus tejidos (Barreto y Castellane 1989).

En la manipulación de la nutrición para aumentar la resistencia a las enfermedades deben observarse varios aspectos (Huber 1980). En primer lugar, la disponibilidad de los nutrientes es más importante que su cantidad total. El daño o predisposición impuesta por deficiencias tempranas o desbalances, puede no ser compensado por aplicaciones posteriores. El estrés por nutrientes causado por enfermedades puede compensarse parcialmente por incrementos de los niveles de nutrientes disponibles (Huber 1980). La disponibilidad de elementos minerales y su efecto en las enfermedades depende de la forma y solubilidad en que éstos se encuentren, para que sean aprovechados

eficientemente. Hay factores ambientales que influyen en tal disponibilidad, como el pH, humedad del suelo, competencia de malezas, secuencia de cultivos, actividad microbiana, temperatura, aireación, lixiviación, fijación de nutrientes y uso excesivo de herbicidas (Huber 1980, Malavolta *et al.* 1989).

Un componente importante del ambiente es la nutrición mineral, la cual es determinante en gran medida de la resistencia o susceptibilidad de las plantas a las enfermedades, y la capacidad de los patógenos para sobrevivir. Los nutrimentos son necesarios para la síntesis de barreras físicas y químicas, y la ubicación de elementos alrededor de los sitios de infección para evitar que continúe (Huber 1994). Es por ello que la disponibilidad de fertilizantes inorgánicos para la producción vegetal representa una medida directa para reducir la severidad de algunas enfermedades, mediante el desarrollo de la resistencia de la planta y el escape de la enfermedad (Huber 1994). Así, la nutrición mineral se puede integrar como complemento de las prácticas agrícolas empleadas en el combate de enfermedades (Palti 1981, Huber 1994).

Los fertilizantes minerales incrementan la tolerancia hacia las enfermedades producidas por algunos patógenos. Plantas enfermas y con bajos niveles nutricionales desarrollan un sistema radical muy pobre. Sin embargo, cuando reciben niveles óptimos de nutrimentos, producen nuevas raíces que reemplazan a las dañadas. Su crecimiento depende de niveles adecuados de la mayoría de los nutrimentos, pero especialmente del aumento de P y N, junto con un buen nivel de humedad. Las nuevas raíces pueden no ser más resistentes a la infección que las de plantas pobremente nutridas, pero algunas de ellas escapan a la infección (Huber 1980).

La nutrición influye sobre la velocidad de crecimiento y la rapidez de las plantas para defenderse del ataque de los patógenos. Las plantas que reciben los nutrimentos requeridos en cantidades adecuadas tendrán mayor capacidad de protegerse de nuevas infecciones y reducir las ya existentes, que cuando se suministran nutrientes en cantidades excesivas o deficientes (Agrios 1988).

Las plantas pueden defenderse por sí mismas, pero esto depende de su vigor general y de su estado fenológico. Se supone que, en alguna medida, la nutrición puede modificar la expresión de la enfermedad, la función de los tejidos para acelerar o disminuir la velocidad de la patogénesis, o la virulencia y capacidad de los patógenos para sobrevivir. Es así como la respuesta de plantas enfermas a la nutrición mineral frecuentemente se da hacia la moderada o alta resistencia, mientras que en las plantas sin nutrición adecuada puede ser hacia alta resistencia o alta susceptibilidad al patógeno (Huber 1980).

Las plantas con estrés por nutrientes generalmente son más susceptibles a las enfermedades. En otros casos, si ellas reciben elementos minerales en exceso se pueden predisponer al ataque de las enfermedades; por ello se debe efectuar un balance en la nutrición de las plantas y buscar el nivel óptimo. Posiblemente los elementos minerales están directamente involucrados en casi todos los mecanismos de defensa, pues son parte integral de células, sustratos y enzimas, además de actuar como inhibidores y reguladores del metabolismo (Huber 1980).

Las plantas nutricionalmente deficientes generalmente tienen menos oportunidad de sobrevivir al ataque de un patógeno. No obstante, los elementos individuales difieren intrínsecamente en sus efectos en las relaciones patógeno-hospedante. Las diferencias son de tipo bioquímico, de los papeles esenciales y no esenciales de los elementos, y los diferentes requerimientos del hospedante y el patógeno (Graham 1983).

La influencia de la nutrición mineral sobre las enfermedades virales ha sido poco estudiada (Martin 1976). Se ha demostrado que la nutrición de la plantas enfermas es eficaz para aminorar la expresión de los virus. En plantas enfermas pero con crecimiento vigoroso, los síntomas se manifiestan más, pero hay mayor respuesta a la aplicación de nutrientes adicionales, en comparación con plantas sanas sin dosis adicionales de fertilizantes. Tal respuesta se expresa en mayor crecimiento y vigor, en la reducción de la

severidad de la enfermedad (enanismo, encrespamiento foliar, mosaico), y en la buena floración y fructificación (Kaplan y Bergman 1985).

Para el estudio de la infección viral, es necesario comprender los mecanismos propios de este proceso, así como los efectos de los nutrimentos en el metabolismo de plantas no infectadas e infectadas (Kaplan y Bergman 1985). Las relaciones entre la infección viral, la planta hospedante y su nutrición, es influenciada por la especie vegetal, raza del virus, momento y sitio de inoculación, cantidad de nutrimentos, ambiente, época y sitio de muestreo de la planta (Kaplan y Bergman 1985).

Algunos nutrimentos específicos pueden promover el desarrollo de una enfermedad, mientras que otros pueden reducirla (Fry 1982). Hay mayor susceptibilidad de ciertas plantas a enfermedades virales cuando la cantidad de fósforo es mayor, que cuando éste es deficiente (Black 1968). Sin embargo, no puede afirmarse con certeza que los efectos observados sean causados totalmente por el contenido de fósforo en las plantas. Este forma parte de las moléculas nucleoproteínicas de los virus, lo que posiblemente ayude que se produzcan las enfermedades virales (Black 1968).

La infección por virus altera el contenido elemental de las plantas hospedantes. Dependiendo en la etapa fisiológica en la cual la planta es infectada e inoculada con el virus, se afectará el crecimiento, rendimiento y expresión de síntomas. Sin embargo, hay casos en que óptimas condiciones nutricionales predisponen más las plantas a los daños producidos por virus (Kaplan y Bergman 1985). En plantas de *Nicotiana glutinosa* infectadas con el virus del mosaico del tabaco (TMV), los altos niveles de nitrógeno (óptimos) incrementaron no solo el crecimiento de la planta, sino que su susceptibilidad a la infección del virus, favoreciendo su multiplicación. A pesar de esto, se reduce la severidad de la enfermedad y también los síntomas. Probablemente la infección causa su daño principalmente en las plantas a las que se les suministró nitrógeno en niveles sub-óptimos (Király 1976).

Las enfermedades virales disminuyen el nitrógeno soluble, durante la rápida síntesis del virus. Algunos sistemas virus-hospedante puede utilizar el 33-65% del nitrógeno total de la planta. Generalmente la cantidad de compuestos nitrogenados no virales en las plantas enfermas, se hallan en menor cantidad que la de las plantas sanas, quizá debido a que el virus se forma a expensas de los niveles normales de tales compuestos de las plantas sanas. No obstante, cuando a la planta se le proporciona una elevada fertilización con nitrógeno, la cantidad total de dicho nutrimento en plantas enfermas puede ser mucho mayor que en plantas sanas, especialmente después de haber finalizado la fase de rápida síntesis viral (Agrios 1988).

Si plantas infectadas con virus reciben elevadas cantidades de nitrógeno, la clorofila es retenida, se suspenden los síntomas y la actividad de transporte de electrones no disminuye. El contenido de virus de las hojas de estas plantas cuatricula el de las hojas con marcada clorosis y baja actividad de transporte de electrones. Esta observación está sustentada en el argumento de que la multiplicación del virus *per se* no es causante de los síntomas de clorosis (Goodman *et al.* 1967).

En tabaco, los altos niveles de fósforo incrementaron la susceptibilidad al virus del mosaico del tabaco (TMV). Los bajos niveles de potasio toman la planta más susceptible al virus (Spencer 1942). El potasio tiene un pequeño pero definitivo efecto en reducir la susceptibilidad del tabaco al virus TMV (Bawden y Kassanis 1950). En tomate y frijol, se ha observado que las aplicaciones balanceadas de potasio disminuyeron la incidencia del TMV (Barreto y Castellane 1989).

El fósforo y el nitrógeno son parte esencial de la proteína viral, por lo que al variar éstos se afectan la síntesis y multiplicación de los virus. El magnesio aplicado a dosis altas reduce la severidad de la infección del TMV en tabaco, pero su escasez severa aumenta la concentración del virus (Seaker *et al.* 1982).

La magnitud del daño dependerá del sitio de la planta donde éste se manifieste y la forma como se expresen los daños. Si el número de lesiones por hoja es tomado como criterio, habrá grandes diferencias. Si se basa en el número de lesiones por unidad de área foliar, las diferencias, aunque aún presentes, son menos marcadas. El número de sitios de infección de plantas de melón inoculadas con virus del mosaico del melón (CMV), varió según la nutrición de la planta. Además, cantidades elevadas fósforo, calcio, y magnesio, con bajas cantidades de potasio, incrementan la susceptibilidad al virus, pero con bajo fósforo y alto potasio ésta se reduce (Martin 1976).

Las enfermedades virales reducen los niveles de calcio en los tejidos, pero el magnesio y potasio son poco afectados. La absorción y translocación de sulfatos y fosfatos decrecen, produciendo acumulación en las raíces. En plantas de tomate infectadas con el TMV, hubo reducciones en las cantidades de calcio y zinc, aunque los niveles de manganeso se incrementaron en los tejidos terminales. Esto es evidencia de que el TMV puede afectar la composición mineral de las plantas de tomate (Bergman y Boyle 1962, Cordrey y Bergman 1979).

2.10 Opciones de manejo del complejo *B. tabaci*-geminivirus

El manejo de *B. tabaci* y sus geminivirus asociados es complejo. Factores como su corto ciclo de vida del vector, alta fecundidad, diversidad de hospedantes, ubicación en el envés de la hoja, capacidad de desarrollar resistencia a los insecticidas y la gran plasticidad genética para desarrollar biotipos y adaptarse a condiciones nuevas o adversas, lo hacen sumamente difícil (Traboulsi 1994).

En el tomate, la solución del problema mediante insecticidas ha sido insatisfactoria, debido a que bajos números de adultos infectan con virus plantaciones completas rápidamente (Hilje 1993). Esto indica la necesidad de buscar opciones de manejo preventivas contra el vector, especialmente en los primeros 60 días del cultivo

(período crítico), que retrasen al máximo el desarrollo de la enfermedad (Hilje 1993) o disminuyan su severidad.

2.10.1 Combate químico

Los insecticidas sintéticos son el método más empleado en el combate de *B. tabaci*. Para tener éxito en su combate químico es importante el conocimiento de la biología del insecto, no solo en el cultivo que produce el daño económico, sino también en hospedantes alternos (Matthews 1992). Además, en varios países el insecto ha desarrollado resistencia a algunos insecticidas organofosforados, organoclorados, carbamatos y piretroides (Prabhaker *et al* 1985, Abdeldaffie *et al.* 1987, Schuster *et al.* 1989, Dittrich *et al.* 1990).

Ante esto, las opciones son las rotaciones, para evitar el uso consecutivo de un mismo grupo químico (Traboulsi 1994); el uso de insecticidas con nuevos modos de acción, como el imidacloprid (Confidor, Gaucho, Admire) (Bayer 1993); o la combinación de insecticidas con prácticas agrícolas y cultivares tolerantes a virus o al vector (Berlinger *et al.* 1983).

Algunos productos químicos no convencionales, como los de origen biológico, aceites minerales y detergentes son promisorios. En Costa Rica, en el campo, se evaluó un extracto acuoso de la semilla de nim, jabón líquido (Safer), el hongo entomopatógeno *Verticillium lecanii* (Mycotal), y el insecticida biológico abamectina (Vertimec); aunque todos superaron al testigo, no evitaron la diseminación de la epidemia (Asiático y Zoebisch 1992).

Para alejar al vector de la planta cabría utilizar repelentes, tanto sintéticos como naturales. Sin embargo, los resultados preliminares son aún insatisfactorios. Existe cierta repelencia al aceite mineral Volck 100 Neutral (Arias y Hilje 1993, Cubillo *et al.* 1994) y ninguna a varios derivados del nim (Margosan-O, Azatin y Nim 80).

2.10.2 Combate biológico

Hay tres estrategias básicas para controlar biológicamente a *B. tabaci*: la conservación, crianza masiva y la importación de enemigos naturales exóticos. Esto requiere de un entendimiento de la biología y ecología, tanto ellos como del vector (Gerling 1992, Cave 1994). Sus enemigos naturales comprenden artrópodos (depredadores y parasitoides) y hongos entomopatógenos, aunque se han investigado más los parasitoides (Gerling 1992). En realidad, se conoce muy poco sobre la ecología de los enemigos naturales (Cock 1992).

En América Central, entre sus depredadores se encuentran: *Delphastus pusillus*, *Coleomegilla cubensis*, *C. maculata*, *Cycloneda sanguinea*, *Hippodamia convergens*, *Scymnus* sp. (Coleoptera: Coccinellidae), *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae), *Cyrtopeltis tenuis* (Hemiptera: Miridae), *Geocoris* sp. (Hemiptera: Lygaeidae), *Condylostilus* sp. (Diptera: Dolichopodidae) (Alvarez *et al.* 1993, Caballero 1993, Serrano *et al.* 1993, Cave 1994).

Entre los parasitoides se encuentran los siguientes himenópteros (Aphelinidae y Platygasteridae): *Encarsia desantisi*, *E. formosa*, *E. hispida*, *E. nigricephala*, *E. pergandiella*, *E. porteri*, *E. quaintancei*, *E. strenua*, *Eretmocerus* sp. y *Amitus* sp. (Cave 1994).

De todos los patógenos, solamente los hongos pueden causar enfermedades, tanto a ninfas como adultos de *B. tabaci*, ya que solamente ellos pueden penetrar la cutícula (Gerling 1986, Fransen 1990, Smith 1993). Los detectados en la región son *Paecilomyces fumosoroseus* y *Verticillium lecanii* (Hall 1993), aunque otros que afectan a *B. tabaci* en otras latitudes, como *Aschersonia aleyrodinis* y *Beauveria bassiana* (Gerling 1990), posiblemente tengan estirpes virulentas contra la plaga. La mayor dificultad para utilizarlos es la necesidad de alta humedad para el desarrollo y multiplicación del hongo, poco frecuente en zonas con sequía estacional (Fransen 1990). En EE.UU. está registrada

una formulación de una cepa de *B. bassiana*, en agua y aceite, con el nombre Naturalis-L. (Smith 1993).

A pesar de contar con enemigos naturales, el control biológico de un vector de geminivirus como *B. tabaci*, presenta varias dificultades. En realidad, aún con niveles poblacionales bajos el vector puede diseminar virus rápidamente (Hilje 1993). Por tanto, su control biológico podría ser factible si se integra con otras medidas racionales de tipo agrícola o fitogenético (Cave 1994).

2.10.3 Cultivares resistentes

La búsqueda de cultivares resistentes puede orientarse ya sea hacia la resistencia al geminivirus o al vector, en lo cual las fuentes de resistencia serían especies de *Lycopersicon* (Berlinger y Dahan 1989).

De la mayoría de cultivos que ataca *B. tabaci*, los esfuerzos más grandes han sido dirigidos hacia el algodón, en el cual se ha encontrado un alto grado de resistencia. Los cultivares de algodón con pubescencia son atacados con mayor fuerza que los glabros, ya que el insecto prefiere ovipositar en la base de los tricomas, y porque la eficiencia de los parasitoides y depredadores disminuye en hojas pubescentes (Cock 1992).

La existencia de cultivares de tomate con tricomas glandulares en el follaje, a pesar de ser una característica inestable genéticamente, representa una forma de resistencia al vector (Saborio 1994). Estos atrapan a los adultos de *B. tabaci* y los matan mediante sus exudados; afectan más a las hembras, las cuales ovipositan en el envés, quienes son más eficientes que los machos en transmitir virus (Costa 1969).

Se han identificado varias fuentes de resistencia en genotipos silvestres; las variedades comerciales disponibles carecen de genes de resistencia (Saborio 1994). En la zona del Mediterráneo, se han evaluado cultivares de tomate con tolerancia al TYLCV,

originarios de *L. pimpinellifolium*, *L. cheesmannii*, *L. hirsutum*, *L. peruvianum* y *L. chilense*, los cuales han mostrado altos niveles de tolerancia (Laterrot 1992). A pesar que los geminivirus identificados en América Central son diferentes del TYLCV, algunas observaciones sugieren que la resistencia desarrollada para éste podría funcionar para aquéllos (Saborío 1994).

2.10.4 Prácticas culturales

Existen varias prácticas que pueden ser útiles en el caso del tomate, debido a su carácter preventivo. Sobresalen las fechas de siembra, periodos sin cultivos, eliminación de rastrojos y de malezas hospedantes, rotación de cultivos, almácigos cubiertos, barreras vivas, altas densidades de siembra, uso de coberturas al suelo, cultivos asociados, cultivos trampa, siembras contra el viento y fertilización adecuada (Palti 1981, Hilje 1993, Salguero 1993).

Programación de la fecha de siembra. Puesto que los geminivirus transmitidos por *B. tabaci* provocan menor daño en la estación lluviosa, cuando las poblaciones del vector son menos abundantes (Anzola y Lastra 1978, Hilje *et al.* 1993a), es posible planificar las siembras al inicio de aquella, para escapar al vector y los virus (Salguero 1993). Así, se podrían cambiar las fechas de siembra, aunque es imposible evitar que se siembre en la estación seca, pues la demanda en el mercado centroamericano se presenta todo el año y los mejores precios se obtienen en dicha estación (Salguero 1993).

Protección de almácigos. Cuando el tomate se siembra en forma directa queda expuesto desde etapas más tempranas al vector y virus. Por ello, la protección de los almácigos con mallas finas, en las primeras etapas del cultivo es clave, pues así se evita la inoculación de geminivirus al tomate durante los primeros 30 días, la primera fase del período crítico (Anzola y Lastra 1978, Hilje 1993, Cubillo *et al.* 1994, Rivas *et al.* 1994, Quirós *et al.* 1994). Cubillo *et al.* (1994) mejoraron esta práctica, al utilizar cartuchos de papel

periódico como recipientes. Con ellos se obtienen plantas de buen porte y vigor, sin virus, las cuales se trasplantan con pilón (bloque de tierra), evitando el estrés del trasplante.

Cultivos trampa. En Jordania, al sembrar pepino (*Cucumis sativus*) cuatro semanas antes del trasplante de tomate, se redujo la incidencia del TYLCV (Al-Musa 1982). En Costa Rica se redujo el número de adultos y retardó la virosis, al intercalar frijol-vainica (*Phaseolus vulgaris*) tratado con insecticida granulado, con el tomate, experimentalmente (Peralta y Hilje 1993). En ambos casos se aprovecha la preferencia de *B. tabaci* hacia ciertos hospedantes.

Coberturas al suelo. La alteración de los rasgos visuales del cultivo con coberturas al suelo, es una buena opción para disminuir la presencia de insectos vectores de virus (Maelzer 1986). En Israel, con el uso de plástico amarillo se retardó la diseminación del TYLCV, debido al calentamiento excesivo de dicho material, que mata a los adultos de *B. tabaci* (Cohen y Melamed-Madjar 1978, Cohen y Berlinger 1986). No obstante, en Costa Rica no funcionó (Amador y Hilje 1993).

Las superficies reflectivas plateadas disminuyen la llegada de homópteros alados, evitando o retardando la propagación de virus (Prokopy y Owens 1983). Para *B. tabaci* en tomate, ha habido avances en Guatemala y Costa Rica (Calderón *et al.* 1994, Blanco y Hilje 1995).

En Costa Rica se evaluaron varias coberturas vivas, para disminuir el contraste entre el suelo desnudo y el cultivo. Al usar coberturas de malezas espontáneas, mani forrajero (*Arachis pintoi*), mucuna (*Stylobium deeringianum*) y cinquillo (*Drymaria cordata*), se redujo sustancialmente la abundancia de adultos y se retardó notoriamente la virosis (Amador y Hilje 1993, Blanco y Hilje 1995).

III MATERIALES Y METODOS

3.1 Ubicación del experimento

Se desarrolló entre marzo y agosto de 1995, en un invernadero del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Está ubicado en el cantón de Turrialba, provincia de Cartago, Costa Rica, a 9° 52' N y 83°38' O y 590 msnm, en la zona de vida bosque húmedo premontano (Tosi 1969). La precipitación anual es de 2628 mm, temperatura anual de 21 °C, la humedad relativa de 88%, y la radiación solar de 11822 cal/cm², promedio (Jiménez 1994). Durante el experimento, los promedios diarios dentro del invernadero fueron de 27,3 C° y 73,5% HR.

3.2 Manejo del cultivo

Se sembró la variedad Hayslip (Asgrow Seed Company, EE. UU.), de crecimiento determinado, por trasplante. El almácigo se estableció en la Estación Experimental La Montaña del CATIE, utilizando cartuchos de papel periódico de 5 cm de diámetro y 9 cm de altura (Cubillo *et al.* 1994). El sustrato fue una mezcla de suelo esterilizado, granza de arroz y abono orgánico en proporción 10:2:1, más 20 g del fertilizante de liberación lenta Osmocote (14-14-14) (Grace Sierra, EE. UU.) por kg de mezcla. El abono orgánico fue un compost rápido tipo "Bocashi", que contiene tierra de montaña, gallinaza, granza de arroz, carbón pulverizado, semolina de arroz y concentrado para ganado, en proporciones de 5:3:3:3:1:1, más cal y melaza (Miranda y Guerrero 1994).

En cada cartucho se depositaron 3-4 semillas y los cartuchos se cubrieron con sacos de nylon, para mantener la humedad del suelo y asegurar la germinación. Después de germinar, se cubrieron con la malla fina Agronet-S (Kayserberg S.A., Alemania) para evitar el ingreso de *B. tabaci* (Quirós *et al.* 1994, Cubillo *et al.* 1994, Rivas *et al.* 1994). Se regó tres veces al día. Se raleó a los 8 días después de la germinación (ddg), dejando una planta por cartucho.

A partir de la germinación se aplicó el semanalmente el fungicida Mancozeb (2 kg/ha) al follaje, y el insecticida Lannate al suelo, contra gusanos cortadores.

El trasplante se realizó a los 30 días después de la siembra (dds), cuando las plantas median 35,5 cm de altura y tenían cuatro hojas desarrolladas. Las plantas se sembraron con el bloque de suelo (pilón) en macetas plásticas N° 1200 (V-J Growers Supply, Florida, EE.UU.), de 27 cm de diámetro y 25 cm de profundidad, con capacidad de 10,5 l de suelo. Se utilizó suelo como sustrato, proveniente de un lote donde hubo pejibaye (*Bactris gasipaes* H.B.K.), y se le hizo análisis químico. Su textura era franco arcillosa, pH= 5,2, materia orgánica 2%. Su concentración de nutrimentos fue de 4,2 mg/l (P), 19,4 (Cu), 5,6 (Zn), 55,0 (Mn); además, 6,16 mg/ml suelo de Ca, 1,81 (Mg), 0,25 (K) y 0,35 % (N) (Anexo 1). El suelo se desinfectó con bromuro de metilo (0,4 kg/2m³), una semana antes del trasplante.

Se sembraron 256 plantas (una por maceta) espaciadas a 0,30 m entre plantas y 0,9 m entre hileras, colocadas en el piso. Al trasplantar no se aplicó fertilizante, debido a que los tratamientos consistirían en la aplicación de diferentes combinaciones de N-P-K y esto podría alterar la respuesta esperada.

Cada tres días se aplicó riego moderado, de 1-2,5 l/maceta, para evitar al máximo el lavado del suelo; la evaporación dentro del invernadero fue muy elevada (Anexo 2). Los tutores se colocaron cuando las plantas median 0,5 m; sin embargo, se sujetaron con cuerdas para evitar su caída, ya que la altura que alcanzaron fue mayor que la de los tutores y evitar que se volcaran. A los 30 dds se aporcó. Cada dos semanas se aplicó Petrilon Combi (MgO, S, Fe, Cu, Zn, B, Mo, Cu), en dosis de 0,8 g/l.

Se aplicó endosulfán (Thiodan) (2 ml/l), contra adultos de *B. tabaci* que pudieran ingresar al invernadero. Se aplicaron los fungicidas metalaxil y oxadixil (2 g/l) hasta antes de la fructificación, cada dos semanas, contra el hongo *Capnodium* sp. A partir de la

fructificación se aplicó el insecticida biológico Javelin (*Bacillus thuringiensis*) (5 g/l) a partir de 20 ddt, cada dos semanas, contra el gusano alfiler (*Keiferia lycopersicella*).

3.3 Tratamientos y diseño experimental

Los factores en estudio fueron ocho dosis de fertilizante, provenientes de la combinación de dos dosis de nitrógeno (400 y 1200 kg/ha), fósforo (600 y 1800 kg/ha) y potasio (300 y 900 kg/ha). Estas se replicaron, ya que las primeras ocho se inocularon con el virus, pero no las ocho restantes (testigos). Estas dosis se distribuyeron durante los 60 días después del trasplante (ddt).

La aplicación de los fertilizantes se inició desde los 5 ddt, semanalmente, hasta completar las dosis. Se determinó la necesidad de fertilizante para cada momento de aplicación, según la curva de absorción de N-P-K (Bertsch y Guzmán 1981) (Anexos 3, 4), y considerando el volumen de suelo empleado (10,5 l/maceta), que es la cantidad que las raíces explorarían (Floria Bertsch 1995, Universidad de Costa Rica, com. pers.). El fertilizante se pesó en una balanza analítica Ohaus. Las fuentes de nutrimentos empleadas fueron urea (46% N), superfosfato triple (46% P), y KCl (60% K₂O). Después de 60 ddt se continuó con dos aplicaciones de urea (46% N), cada dos semanas.

Se utilizó un diseño en bloques completos al azar, en arreglo factorial 2³ (2x2x2), con ocho tratamientos inoculados con virus y ocho sin inocular, para un total de 16 tratamientos, con cuatro repeticiones. La unidad experimental estuvo formada por cuatro plantas.

Los tratamientos (dosis de N-P-K/ha) fueron:

CON INOCULO		SIN INOCULO	
T1	400-600-300	T1	400-600-300
T2	400-600-900	T2	400-600-900
T3	400-1800-300	T3	400-1800-300
T4	400-1800-900	T4	400-1800-900
T5	1200-600-300	T5	1200-600-300
T6	1200-600-900	T6	1200-600-900
T7	1200-1800-300	T7	1200-1800-300
T8	1200-1800-900	T8	1200-1800-900

3.4 Inoculación

Puesto que las plantas no presentaron estrés, se efectuó 1 ddt. Se utilizaron adultos de *B. tabaci* colocados dentro de microjaulas plásticas, por 48 h, en las plantas sanas. Provinieron de colonias desarrolladas en otro invernadero, donde previamente fueron colocados por 24 h en plantas de tomate viróticas, dentro de microjaulas plásticas, para la adquisición de geminivirus (Rivas *et al.* 1995a). Se colocaron cinco adultos por microjaula.

Las microjaulas tenían una malla de nylon en uno de sus extremos y en el otro los bordes poseen una capa fina de espuma, permitiendo a los insectos el acceso a la hoja de la planta, pero sin maltratarla; se fijó a la planta con una prensa, para que las moscas tomaran el virus o lo inocularan desde el envés de la hoja.

3.5 Variables de respuesta y análisis estadístico

a) Índice de severidad

Semanalmente se registró el número de plantas con síntomas visibles, para obtener la curva de progreso de la enfermedad en cada tratamiento. Para ello se utilizó la siguiente escala visual (Ioannou 1985):

- 0 = Sin presencia de síntomas
- 1 = síntomas moderados en las hojas superiores
- 2 = síntomas moderados persistentes en las hojas superiores (clorosis marginal e internerval), sin efecto aparente en el crecimiento de la planta.
- 3, 4, 5 = síntomas típicos de hoja rugosa amarilla, con evidente reducción del crecimiento de la planta. Reacción moderada general (3), intermedia (4) o severa (5).

b) Altura de plantas

Semanalmente se midió la altura a todas las plantas, desde la base hasta la yema apical, con una regla graduada en centímetros. Cuando las plantas se bifurcaron, se escogió "guía" de mayor altura.

c) Concentración de nutrimentos en la planta

Se muestreó cada dos semanas, a los 3, 18, 33, 48 ddt. Para ello se seleccionó al azar una repetición y las muestras se tomaron a los ocho tratamientos que fueron inoculados deliberadamente (INOC), y a T1 y T8 en los tratamientos con la dosis de N-P-K más baja y más alta en los tratamientos sin inocular (ACC). Se muestreó la 3a. y 4a. hojas de arriba hacia abajo, junto con su pecíolo. Las muestras consistieron en tejido de cuatro plantas, sumando 100 g.

Los análisis se efectuaron en el Laboratorio de Suelos del CATIE. Para el desarrollo de los métodos, se siguieron las recomendaciones de un manual técnico (Henríquez *et al.* 1995). Se lavaron las muestras con una solución diluida de HCl (2%) y después con agua destilada, para eliminar contaminantes (suelo, fertilizantes o fungicidas). Se secaron a 70°C por 24 h, maceraron y colaron en una malla N° 40, hasta obtener 20 g de tejido seco (Díaz-Romeu 1982).

Con excepción del N, el primer paso en la determinación fue la digestión o incineración de los tejidos a altas temperaturas (2-3 h, a 500 °C), quedando solo las cenizas de los tejidos, para luego diluirla en una solución de HCl o H₂SO₄; así se convierten las formas ligadas a estructuras orgánicas a formas "solubles" o "minerales".

Se pesó 1 g de tejido molido y se depositó en un erlenmeyer de 125 ml, al cual se agregaron 15 ml de mezcla nitroperclórica (1 parte de ácido perclórico y 5 de ácido nítrico), para digerir la muestra. Esta muestra (concentrada) se filtró y transfirió a un balón aforado, de 100 ml, para determinar los elementos. Para el Ca, Mg y K se tomó 1 ml del concentrado y se diluyó en 100 ml de agua destilada, se le agregaron 3 ml de cloruro de lantano al 1%, y se aforó. Se determinaron las cantidades de los elementos mediante un espectrofotómetro de absorción atómica. Los análisis de Mn, Cu, Fe y Zn se realizaron directamente del concentrado en un espectrofotómetro de absorción atómica (Bertsch 1995, Díaz-Romeu 1982).

Para el fósforo se utilizó 1 ml del concentrado y se diluyó en 50 ml de agua destilada, se añadió 8 ml de cloruro estañoso y 10 ml de H₂SO₄. Se determinó colorimétricamente midiendo la cantidad de luz absorbida por la muestra.

El nitrógeno se analizó empleando el método Microkjeldahl, que se basa en la digestión de la muestra con una mezcla "digestiva", y la posterior destilación de la solución remanente con una solución básica.

d) Biomasa

Al final de la cosecha se cortaron las hojas, tallos y raíces de todas las plantas, y se depositaron por separado en bolsas de papel. Se secaron a 70°C por dos semanas y después se seccionaron, para obtener el peso seco por estructura. Para los frutos, se tomó una muestra de 10 frutos maduros de cada clase, por cada repetición.

e) Concentración de ADN viral

Se realizaron cuatro muestreos de tejido foliar, a los 15, 30, 45 y 60 ddt, en todos los tratamientos. Cada muestra, de 0,5-1 g de tejido vegetal por tratamiento, fue un consolidado de las cinco plantas de cada tratamiento (0,1-0,2 g de hoja del estrato superior de cada planta). Cada una fue transferida a tubos Eppendorf de 1,5 ml, mantenidos en hielo, para evitar la oxidación del tejido. Luego fueron trasladadas al Laboratorio del Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular (CIBCM) de la Universidad de Costa Rica, donde se determinó la concentración de ADN viral, mediante el método de hibridación de ácidos nucleicos, utilizando sondas frías (Maxwell *et al.* 1994) (Pilar Ramírez 1995, UCR, com. pers.).

El esquema del procedimiento para la detección de geminivirus con sondas frías aparece en el Anexo 5.

Extracción de ADN. Para evitar el deterioro de las muestras por el constante manipuleo, se les liofilizó. Se colocaron en nitrógeno líquido a -196 °C, lo que facilitó la pulverización del tejido en los tubos Eppendorf. El macerado se realizó agregando 1000ml de la solución amortiguadora STE 1X (0,1 M Na CL, 10 mM Tris-Cl₂ pH 8, 1mM EDTA pH8) a cada tubo Eppendorf, para obtener el ADN viral y el de la planta; luego se clarificó por centrifugación a 10000 rpm durante 5 min. Esta es una extracción cruda, pues además del ADN hay proteínas de la planta. Del sobrenadante se trasladaron 600 ml de la

solución a un tubo limpio, al que se le agregó 900 ml de la solución amortiguadora STE 1X, para obtener la muestra concentrada.

Para el desarrollo del método de hibridación de ácidos nucleicos con sondas frías, se siguió el protocolo de Gene Images Non Isotropic Nucleic Acid Detection Kit (United States Biochemical).

Preparación de la membrana para hibridación. La membrana de nylon se colocó sobre un Bio Dot, el cual facilita la colocación de la muestra concentrada sobre la membrana de nylon. Se tomaron 200 ml de dicha muestra y se depositaron en los compartimentos del Bio Dot, el cual mediante presión de vacío absorbió la solución, dejando sobre la membrana el ADN viral y el de la planta, así como material celular desintegrado. Luego se colocó la membrana en un horno a 80°C por 30 min, para adherir el ADN viral a la membrana. Posteriormente se efectuó una prehibridación, con la solución amortiguadora de hibridación (7% SDS, 1% caseína, 1 mM EDTA y 0,25 M Na₂HPO₄·7H₂O, pH 7) a 65°C por 1 h. Se colocaron 0,2 ml de solución amortiguadora por cm² de membrana, para sellar los espacios de la membrana en donde no hay ADN, y que, al momento de la hibridación la sonda no se pegue en los espacios donde no hay ADN en la membrana.

Hibridación. Se utilizó una sonda específica marcada con biotina para el virus del mosaico amarillo del tomate (Pilar Ramírez 1995, UCR com. pers.). Esta se tuvo que desnaturalizar, para que se pudiera unir con el ADN viral de la muestra, el cual ya estaba en simple banda. Este proceso se realizó colocando la sonda a 95°C por 10 min y luego por 5 min en hielo, para que el ADN se enfriara rápidamente y evitar la re-naturalización de las bandas. Se colocó la membrana dentro de un tubo especial, que contenía la sonda desnaturalizada diluida en la solución amortiguadora de hibridación, a una concentración de 14 ng/ml, durante 16 h, a 65°C. Se efectuaron cuatro lavados de post-hibridación (que determinan una mediana astringencia) a la membrana, con:

- a) Solución amortiguadora 2X SSC 0,5% SDS (20X SSC=3 M Na Cl, 0,3 M Na-citrato, pH 7) a 65 °C por 1-2 min, después se lavó con agua destilada por 2 min a temperatura ambiente.
- b) Solución amortiguadora 2X SSC + 0,5% SDS por 20 min, luego con agua destilada por 20 min.
- c) Solución amortiguadora 0,2X SSC + 0,1% SDS por 30 min, seguidamente con agua destilada por 10 min, continuando con la solución amortiguadora 0,2X SSC +0,1% SDS por 30 min, de ahí con agua destilada por 10 min. Este tercer lavado se efectuó a 65 °C.
- d) Solución amortiguadora 0,2X SSC + 0,1% SDS por 30 min, después con agua destilada por 10 min y por ultimo con la solución amortiguadora 2X SSC por 10 min. Todo lo anterior a temperatura ambiente.

El geminivirus se detectó por quimioluminiscencia. Consistió en aplicarle el bloqueador de solución amortiguadora 1X 0,5 ml/cm² de membrana, por 1 h. Este no tiene afinidad por el ADN y su función es bloquear los sitios en blanco de la membrana. Se aplicó la enzima streptavidina fosfatasa alcalina (SAAP) que reconoce al ADN marcado con Biotina, por 10 min. Se efectuaron cuatro lavados a temperatura ambiente con:

- a) Dos lavados con solución amortiguadora 1X post-SAAP + 0,1% de SDS por 5 y 20 min con dos lavados con agua destilada por 5 y 20 por cada lavado con solución amortiguadora.
- b) Un lavado con la solución amortiguadora anterior por 20 min y con agua destilada por 20 min
- c) Idem al paso anterior
- d) Con solución amortiguadora 1X post-SAAP sin SDS por 20 min.

Se colocó la membrana dentro de una bolsa plástica y se le agregó Lumi-Phos 530 por 2 h, a 37°C, el cual sirvió como sustrato de la enzima, para producir un compuesto inestable que cuando se hidroliza libera energía y produce luz.

Detección de la hibridación. Se cortó un trozo de película para rayos-X del tamaño de la membrana. Se colocó la cara de la membrana contra ella (sin sacar la membrana de la bolsa) en un cassette de detección por 30 a 45 min, en un cuarto oscuro, para detectar la luz emitida sobre la película. Esta después se colocó en una solución reveladora por 5-10 min, hasta que cambió de color. Se lavó con agua destilada, y se sumergió en una solución fijadora. Para el análisis de la concentración viral obtenida en la película, se utilizó un "escáner" (dispositivo de exploración óptica que se utiliza para elaborar negativos de selección de color a partir de transparencias en color) mediante el "software" Photoshop 2.5 (Versión para McIntosh) La información obtenida se procesó mediante el "software" NIH Image/68 k 1.57 (Versión para McIntosh).

Preparación de la sonda marcada con Biotina

- Se toman 25-100 ng de ADN de un plásmido que tiene insertado la molecula B del ToYMV, que será la secuencia patrón (ADN "template"). agregar 2 μ l de imprimadores que son oligonucleotidos al azar. Completar un volumen total de 16 ml con agua destilada.
- Desnaturalizar el ADN colocándolo en un tubo, en baño de agua hirviendo por 10 min, seguidamente y de forma rápida enfriar en hielo por 5 min.
- Se adiciona 3 ml de mezcla de trifosfonucleótidos incluyendo CTP-Biotinilado más 1 ml de Enzima Klenow (libre de exonucleasa), con el fin de hacer una reacción de marcaje. La enzima klenow es una polimerasa, la cual polimeriza una molécula de ADN complementaria al patrón. Esta mezcla hará un volumen total de 20 ml con el primer volumen de 16 ml.
- Homogenizar bien e incubar la reacción toda la noche a 37 °C
- Agregar "Solution Stop" EDTA (quelante que capta iones divalentes) 2 ml con el fin de parar la reacción de marcaje, ya que sino esta se sigue produciendo.

- Hacer una precipitación diferencial, que consiste en remover los nucleotidos no incorporados, precipitando con etanol únicamente el ADN del virus. Para mayor eficiencia en la recuperación del ADN del virus, hay que agregar 2-5 ml de "Carrier" de esperma de pescado. Los nucleotidos no incorporados se eliminaran en el sobrenadante. Adicionar acetato de amonio 2 M a la concentración final. Precipitar la prueba adicionando 2,5 volúmenes de Etanol completamente frío a -20 °C toda la noche o 80 °C por menos de 1 h. Después centrifugar a 10000 rpm en tubos de microcentrifuga por 30 min a °C. Eliminar el sobrenadante con cuidado, ya que la sonda esta en el fondo del tubo (ADN en forma de "Pellet").
- Colocar el "Pellet" (ADN) en el liofilizador, con el fin de secarlo y eliminar trazas de etanol. Después resuspender el "Pellet" con 20 ml de solución amortiguadora TE 1X, pH 7,5 + 0,1% SDS. Calentar esta mezcla a 37 °C, con el fin de ayudar a solubilizar la sonda de ADN biotinilada. Esta sonda puede ser almacenada a -20 °C por menos de un año. Se deben probar diferentes concentraciones para calibrarla.

f) Rendimiento

La cosecha se inició el 17 de junio y duró ocho semanas. La recolección se hizo a mano, una vez por semana. El rendimiento (número y peso de todos los frutos) se clasificó según la siguiente escala (Jiménez *et al.* 1988):

- | | |
|-----------|--|
| Clase I | Frutos mayores de 160 g , diámetro mayor a 7 cm, sanos y con buena apariencia |
| Clase II | Frutos de 120-160 g, diámetro de 5,5-7 cm, con buena sanidad y apariencia |
| Clase III | Frutos menores de 120 g, y 5,5 cm de diámetro, generalmente sin grado de madurez definido. |

g) Análisis estadístico de los datos

Se realizaron análisis de varianza y pruebas de comparación de medias, mediante la prueba de Duncan, para las siguientes variables: índice de severidad, altura de planta, concentración de nutrimentos, biomasa, calidad y peso de frutos, y peso seco de hojas, tallos, raíces y frutos. Se utilizó el software para análisis estadístico SAS (SAS Institute).

Inicialmente se planeó comparar los tratamientos inoculados deliberadamente (INOC) con los no inoculados (testigos). Esto no se pudo hacer, pues los últimos fueron inoculados accidentalmente. Sin embargo, el análisis se mantuvo, pero para comparar el efecto de una infección retardada.

IV RESULTADOS

Los semilleros estuvieron en un sitio aislado y las plantas utilizadas para el experimento estaban cubiertas con mallas, lo cual evitó que fueran inoculadas por *B. tabaci* durante los primeros 30 días del cultivo. El porcentaje de germinación fue de 80%. En los potes donde no germinaron se sembró de las que quedaron del raleo efectuado. Al trasladarlas al invernadero, fue imposible evitar que se infectaran los tratamientos que servirían como testigos, a pesar del estricto control con endosulfán cada 3-5 días. Por ello, a éstos se les denominó tratamientos con inoculación accidental (ACC), en contraste con los inoculados deliberadamente (INOC).

Al ser trasplantadas, las plantas de casi todos los tratamientos medían 35,5 cm, en promedio. Entre 14-21 ddt se observó el primer incremento en altura, que fue leve, y continuó con el crecimiento acelerado, casi exponencial. Los tratamientos no difirieron entre sí ($p > 0,05$) (Cuadro 1), por lo que se graficó el promedio de todos. La tendencia fue similar entre INOC y ACC (Fig. 1A), sin diferencias ($p > 0,05$) (Cuadro 1). Los valores promedio variaron entre 1,45-1,65 y 1,55-1,79 m, respectivamente, aunque algunas plantas de los INOC y ACC midieron hasta 2,30 m. La altura se dejó de registrar a los 63 ddt (Anexo 7), debido a que la gran cantidad de follaje impedía el desplazamiento entre las hileras.

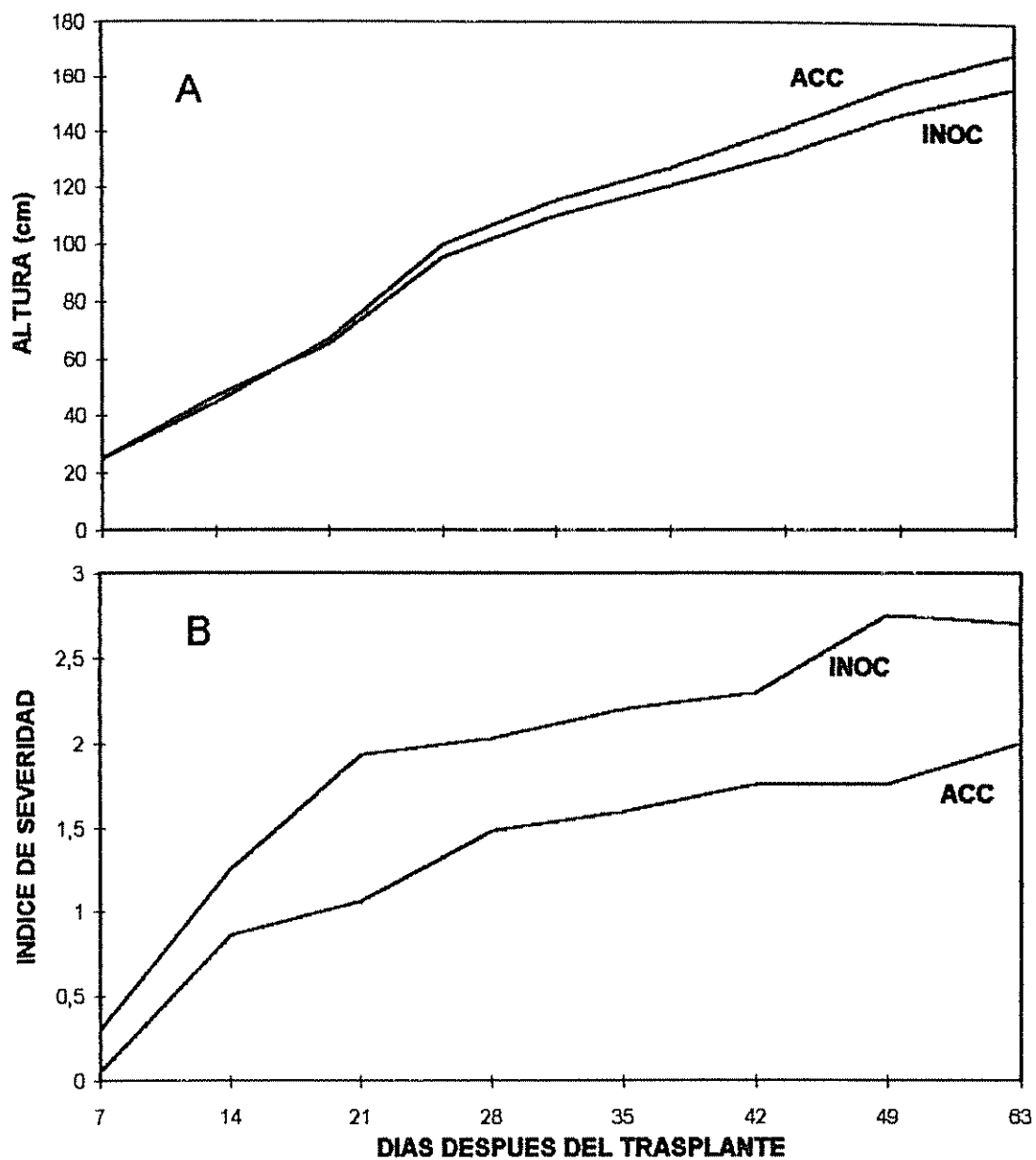


Figura 1. Promedios de altura (A) e índice de severidad (B), durante el experimento, para tratamientos inoculados deliberadamente (INOC) y accidentalmente (ACC). Datos consolidados de ocho tratamientos.

CUADRO 1. Promedios de altura e índice de severidad finales, según los tratamientos inoculados deliberadamente (INOC) y accidentalmente (ACC)

TRATAMIENTOS (N-P-K)	ALTURA (cm)		SEVERIDAD	
	INOC	ACC	INOC	ACC
T1 (400-600-300)	159,1 a	170,13 a	1,70 ab	1,29 a
T2 (400-600-900)	150,3 a	159,31 a	1,82 a	1,46 a
T3 (400-1800-300)	164,5 a	166,31 a	1,32 c	0,98 b
T4 (400-1800-900)	153,8 a	173,13 a	1,74 ab	1,13 a
T5 (1200-600-300)	144,9 a	179,06 a	1,88 a	1,02 a
T6 (1200-600-900)	158,8 a	155,44 a	1,32 c	1,40 a
T7 (1200-1800-300)	160,8 a	176,69 a	1,83 a	1,06 a
T8 (1200-1800-900)	159,8 a	173,38 a	1,76 ab	0,74 b
R ²	48	44	61	50
C.V. (%)	6	5	23	25

Los promedios con letras iguales no son significativamente diferentes ($p < 0,05$) según la prueba de Duncan.

Puesto que las plantas no manifestaron estrés por el trasplante, el geminivirus se inoculó 1 ddt. En los INOC los síntomas se manifestaron a 7 ddt, en forma leve, como mosaicos incipientes; en ACC éstos se percibieron a 14 ddt (Fig. 1B). Posteriormente, en todos la severidad aumentó, aunque en ACC se retardó un poco y fue más leve, pues los promedios variaron entre 0,74-1,46, mientras que en INOC lo hicieron entre 1,32-1,88 (Cuadro 1). Dentro de ambos grupos de tratamientos hubo diferencias ($p < 0,05$) de T3 y T6 (INOC) y T3 y T8 (ACC) con el resto. Entre ellos no hubo diferencias y presentaron los valores más bajos (Cuadro 1), pero sí al comparar los tratamientos INOC con los ACC, cuyos valores más altos fueron de los INOC (Cuadro 1, Anexo 8). A los 63 ddt, el máximo en INOC fue 2,5, que correspondió a síntomas moderados persistentes, constantes en el tiempo, en las hojas superiores (clorosis marginal e internerval) sin efecto en el crecimiento de la planta; en ACC el máximo fue de 1,75, correspondiente a síntomas moderados persistentes en las hojas (Fig. 1B, Anexo 8).

Para todos los tratamientos la mayor producción de biomasa, en orden jerárquico, fue de follaje, frutos, tallo y raíces (Fig. 2). Durante el experimento la cantidad de follaje fue abundante, lo que obstaculizó algunas labores dentro del invernadero. No hubo caída de hojas en ninguno de los tratamientos. Tanto para INOC como ACC hubo diferencias entre tratamientos ($p < 0,05$) para todos las estructuras y para la biomasa total (Cuadro 2). En INOC, los tratamientos con valores mayores generalmente fueron los que recibieron dosis altas de fósforo (T3, T4, T7 y T8) y especialmente los dos primeros.

En ACC únicamente hubo diferencias ($p < 0,05$) de T2 y T6 con el resto. Mostraron los promedios más bajos, y al igual que los INOC, los mayores valores los tuvieron los que recibieron las dosis altas de fósforo (T3, T4, T7 y T8) (Cuadro 2). Al comparar INOC y ACC, se observó que estos últimos superaron a los INOC tanto en la producción total de biomasa como por estructura, sobresaliendo T3, T4, T7 y T8, exepctuando el T6 (INOC), que resultó con los valores más altos en todas las estructuras y en la biomasa total (Cuadro 2).

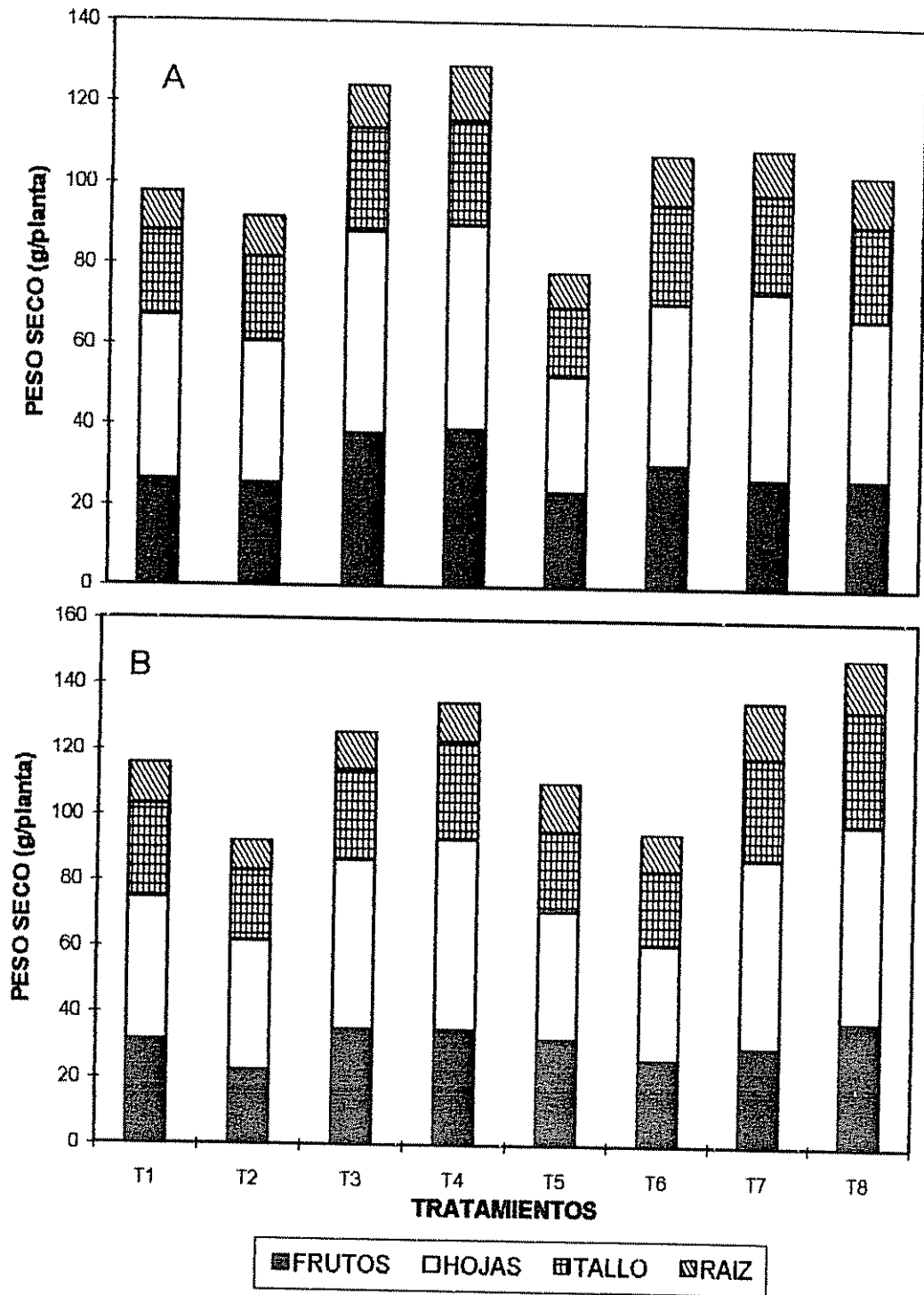


Figura 2. Promedios del peso seco de varias estructuras, según los tratamientos, en plantas inoculadas deliberadamente (A) y accidentalmente (B).

CUADRO 2. Promedio del peso seco (g/planta) por estructura, según los tratamientos inoculados deliberadamente (INOC) y accidentalmente (ACC).

TRATAMIENTOS (N-P-K)	FRUTOS		HOJAS		TALLO		RAICES		TOTAL	
	INOC	ACC	INOC	ACC	INOC	ACC	INOC	ACC	INOC	ACC
T1 (400-600-300)	26,01 b	31,38 a	40,88 b	42,99 ab	20,65 b	28,58 a	9,96 a	12,77 ab	97,50 b	115,72 a
T2 (400-600-900)	25,26 b	22,25 c	35,46 b	39,31 b	20,65 b	21,22 ab	10,06 a	9,38 c	91,43 b	92,16 b
T3 (400-1800-300)	38,11 a	34,53 a	49,87 a	51,56 a	25,47 a	27,81 ab	10,85 a	11,58 ab	124,30 a	125,48 a
T4 (400-1800-900)	39,35 a	34,52 a	50,49 a	58,32 a	25,86 a	29,87 a	13,46 a	11,68 ab	129,16 a	134,39 a
T5 (1200-600-300)	23,82 b	32,02 a	28,76 c	38,74 b	17,06 bc	24,36 ab	8,49 b	15,01 a	78,13 c	110,13 a
T6 (1200-600-900)	30,73 b	25,70 b	40,09 b	35,49 b	24,15 a	22,04 ab	12,52 a	11,53 ab	107,49 b	94,76 b
T7 (1200-1800-300)	27,47 b	29,86 ab	46,39 a	57,48 a	24,00 a	30,69 a	11,32 a	17,39 a	109,18 b	135,42 a
T8 (1200-1800-900)	27,44 b	37,83 a	39,61 b	59,88 a	23,24 a	35,14 a	12,36 a	15,82 a	102,65 b	148,67 a
R ²	49	60	65	55	62	70	56	60	62	65
C.V. (%)	22	19	18	20	18	15	25	24	17	15

Los promedios con letras iguales no son significativamente diferentes ($p < 0,05$), según la prueba de Duncan.

Hubo diferencias ($p < 0,05$) en el peso seco de las raíces y tallos de los INOC y los ACC, principalmente en T3, T4, T7 y T8 que tuvieron los valores más altos. Las hojas dieron el mayor aporte en peso seco. Hubo diferencias ($p < 0,05$) para el follaje, en T3, T4 y T7 (INOC) y el resto. En los ACC, además de los tratamientos anteriores, T8 fue diferente a los demás. El peso seco de los frutos en los INOC solo los T3 y T4 son diferentes a los demás, en los ACC únicamente los T2 y T6 fueron diferentes al resto, de ahí no se observó ningún tipo de diferencias (Cuadro 2).

La concentración de casi todos los elementos analizados difirió ($p < 0,05$) entre las épocas de muestreo, pero no entre los tratamientos (Cuadro 3). Por tanto, los datos se graficaron consolidando todos los tratamientos (Fig. 3) (Anexo 9 Y 10).

El nitrógeno no varió ($p > 0,05$) entre épocas ni tratamientos. Las cantidades absorbidas fueron casi constantes, con disminución únicamente a 33 ddt (Fig. 3A), cuando T3 y T5 mostraron los valores menores. Fue el elemento más absorbido. En el último muestreo (48 ddt) la mitad de los tratamientos mostraron concentraciones inferiores (2,5-3,99 %), y la otra mitad los tuvo intermedios (4-6%) (Anexo 9).

El fósforo varió ($p < 0,05$) entre épocas. A los 3 y 18 ddt fue alto (0,25-0,75%) (Anexo 11), pero descendió hasta 33 ddt, siendo los tratamientos con la dosis más baja (T1, T2, T5 y T6) los que mostraron una menor concentración y repuntó levemente hasta 48 ddt (Fig. 3B) (Anexo 6). T5 y T6 difirieron del resto a 33 ddt (Cuadro 3).

El potasio difirió ($p < 0,05$) en el primer muestreo (3 ddt) del resto de las épocas, mostrando los valores más altos (5 % en todos los tratamientos); sin embargo, a los 18 ddt descendió; manteniendo su concentración casi constante hasta 48 ddt (Fig. 3A). Los valores más bajos se presentaron a 33 ddt (1,05-2,89 %) (Cuadro 3, Anexo 11) excepto T2 y T6 que mantuvieron concentraciones intermedias (2,9-5%). Para esta fecha el 90 % de la plantación había entrado en floración (antesis).

El calcio difirió ($p < 0,05$) entre épocas pero no entre tratamientos (Anexo 9). Las concentraciones fueron intermedias (1-3%). Sin embargo, a los 33 ddt hubo una reducción y únicamente T2, T3, T6 y T7 mostraron valores intermedios (1-3%) mostrando diferencias ($p < 0,05$) con los demás. El resto tuvieron bajas concentraciones entre 0,80-0,99% (Cuadro 3, Fig. 3A).

Con el magnesio no hubo diferencia ($p < 0,05$) entre tratamientos, pero sí de las épocas 33 y 48 ddt con las demás, mostrando los valores más bajos a los 33 ddt (Anexo 9). Todos los tratamientos mostraron valores intermedios (0,4-0,6%); a partir de los 18 ddt se dió una reducción en la concentración (Fig. 3B). A 33 ddt todos los tratamientos tuvieron valores bajos (0,25--0,39%) (Cuadro 3).

En cuanto al cobre, manganeso y zinc, aunque estos elementos no se consideraron en la prueba de las dosis de fertilizantes, se analizaron como parte de los resultados del análisis foliar. Hubo diferencias ($p < 0,05$) de T1 y T4 (zinc), T5, T7 y T8 (cobre) y T3 (manganeso) con el resto de tratamientos. También hubo diferencia entre las épocas (Fig. 3C, Anexo 10). Los valores de concentración fueron intermedios para el Cu y Zn (5-20 y 20-50 ppm respectivamente). El Mn tuvo valores altos (4-250 ppm) en las tres épocas de muestreo. A 33 ddt la concentración de todos los tratamientos tuvo niveles intermedios (Cuadro 3, Anexo 10).

Los rendimientos difirieron entre tratamientos en INOC ($p < 0,05$), tanto por clases de frutos como para el total (Cuadro 4), resultando generalmente mayores en T3 y T4 (Fig. 4), que no difirieron entre sí. INOC y ACC tampoco difirieron entre sí (Cuadro 4). En ACC, además de T3 y T4, sobresalieron T1, T5 y T8 (Fig. 4B).

CUADRO 3 .Concentración foliar de nutrimentos a los 33 ddt, en los tratamientos inoculados deliberadamente.

TRATAMIENTOS (N-P-K)	N (%)	P ₂ O ₅ (%)	K ₂ O (%)	Ca (%)	Mg (%)	Zn (ppm)	Cu (ppm)	Mn (ppm)
T1 (400-600-300)	4,02 a	0,19 a	2,86 a	0,98 bc	0,22 a	32 b	32 a	334 a
T2 (400-600-900)	4,04 a	0,19 a	3,02 ab	1,20 a	0,26 a	36 ab	34 a	346 a
T3 (400-1800-300)	3,75 a	0,20 a	2,72 a	0,88 b	0,22 a	42 a	34 a	296 b
T4 (400-1800-900)	4,38 a	0,24 a	2,76 a	0,90 bc	0,20 a	32 b	30 ab	314 a
T5 (1200-600-300)	3,59 a	0,15 b	2,62 a	0,88 b	0,20 a	36 ab	26 b	302 a
T6 (1200-600-900)	4,03 a	0,16 b	3,16 ab	1,44 a	0,24 a	36 ab	30 ab	366 a
T7 (1200-1800-300)	4,27 a	0,20 a	2,80 a	1,08 a	0,24 a	30 b	26 b	322 a
T8 (1200-1800-900)	4,17 a	0,21 a	2,84 a	0,88 b	0,20 a	30 b	24 b	322 a
R ²	46	97	97	88	32	75	86	63
C.V. (%)	6	8	6	8	130	26	10	10

Los promedios con letras iguales no son significativamente diferentes ($p < 0,05$) según la prueba de Duncan.

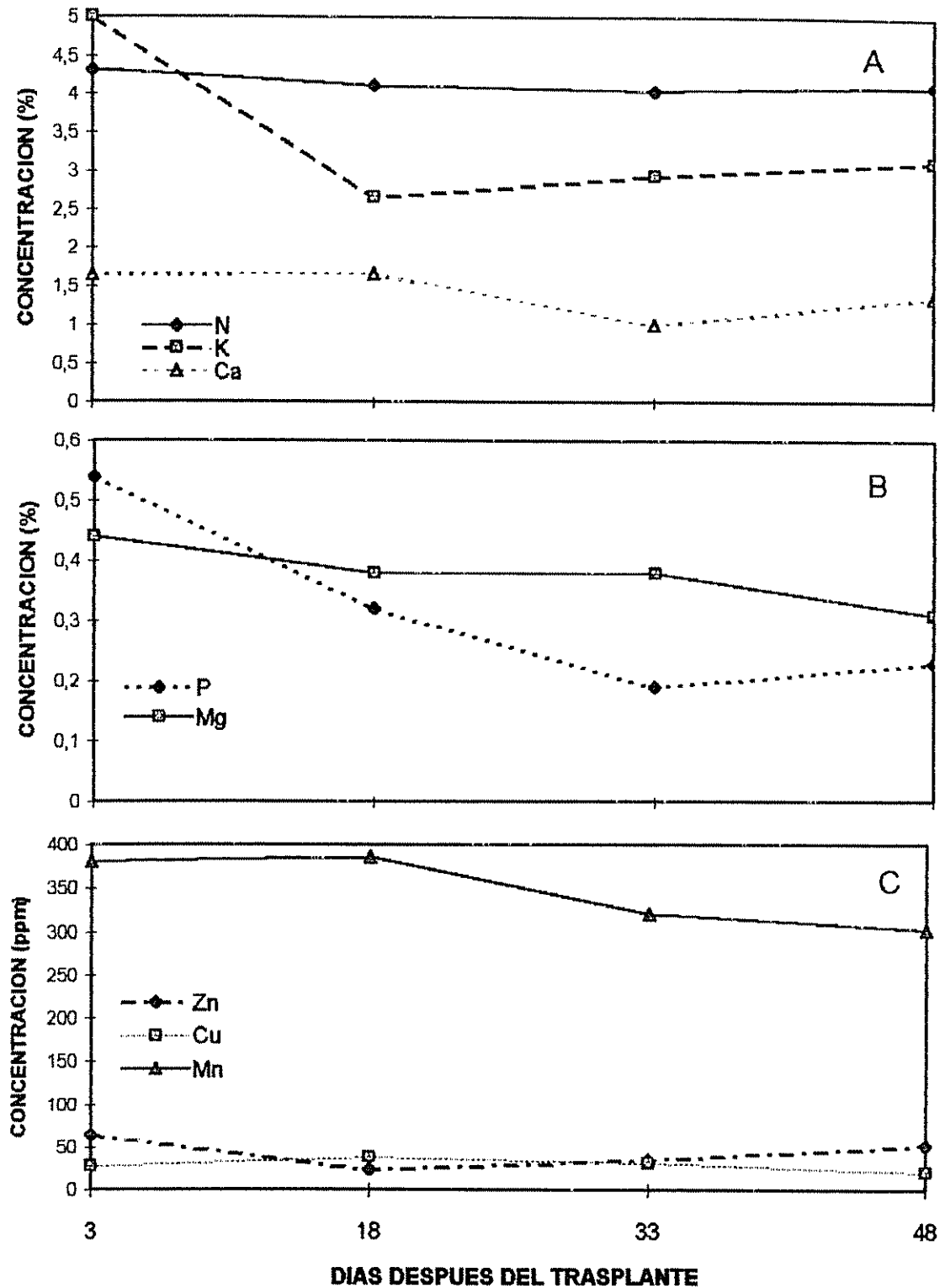


Figura 3. Promedios de concentración de nutrientes en el follaje, durante el experimento. Datos consolidados de ocho tratamientos.

En la calidad de los frutos predominó la clase II, seguida por la III, en todos los tratamientos, incluyendo INOC y ACC; la I estuvo muy poco representada (Fig. 4). Para la clase I en INOC los tratamientos difirieron entre sí ($p < 0,05$), destacando T3, T4 y T6 (Cuadro 4). En ACC, sobresalieron T1, T4, T5 y T7, que no difirieron entre sí. Para la clase II, en INOC los tratamientos difirieron entre sí ($p < 0,05$), destacando T3, T4, T6 y T7, mientras que en ACC lo hicieron T1, T3, T4, T5 y T8, que no difirieron entre sí. Para la clase III, en INOC los tratamientos difirieron entre sí ($p < 0,05$), sobresaliendo T3, T4, T7 y T8, que no difirieron entre sí, mientras que en ACC lo hicieron T3, T4, T6, T7 y T8, que no difirieron entre sí. La mayor producción para las clases I y II se concentró en las primeras cuatro cosechas, tanto para INOC como ACC, mientras que para la III mostró altibajos durante las ocho cosechas (Fig. 5).

La concentración de ADN viral fue bastante similar (150-200 unidades de densidad) inicialmente, a 15 ddt, en casi todos los INOC (Fig. 6A). La tendencia general fue similar entre ellos, pues a 30 ddt descendió en todos, aunque en menor cantidad en los T1 y T8 (Anexo 12). El descenso, se mantuvo casi constante hasta 45 ddt. Después aumentó aceleradamente hasta valores de 200-250 unidades. Las variaciones fueron menos marcadas en T1 y T8; éste desde un inicio mostró los valores mayores. En ACC, para disminuir el volumen de muestras en el laboratorio, se analizaron solamente T1 y T8, que recibieron las dosis más baja y más alta de N-P-K. Ambos mostraron una tendencia análoga a la de INOC, pero su máximo valor (200 unidades), alcanzado a 60 ddt, fue inferior al de la mayoría de aquéllos (Fig. 6, Anexo 12).

Los datos de concentración no se analizaron estadísticamente, ya que por los valores observados no se esperaba que hubiera diferencias significativas. Además, no hubo repetitividad, por el costo de los análisis y lo laborioso de los mismos; se hicieron muestreos al azar que representaran a todo los tratamientos. Solamente el análisis gráfico permitió observar como varió la concentración a través del tiempo.

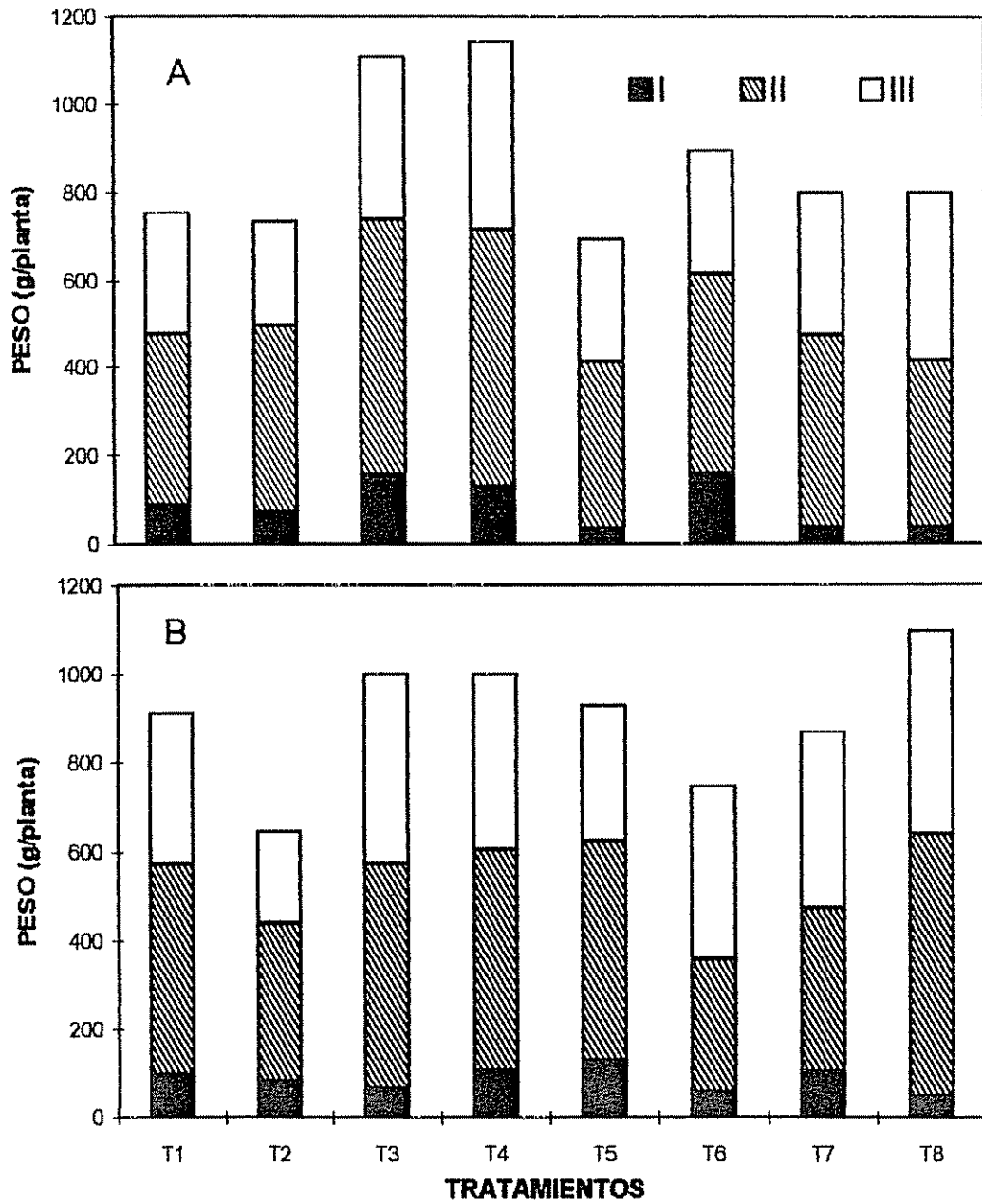


Figura 4. Promedios del rendimiento, según las clases de frutos, para tratamientos inoculados deliberadamente (A) y accidentalmente (B).

CUADRO 4. Promedios del rendimiento (g/planta) y por clases de frutos, en tratamientos inoculados deliberadamente (INOC) y accidentalmente (ACC).

TRATAMIENTOS (N-P-K)	CLASE I		CLASE II		CLASE III		RENDIMIENTO TOTAL	
	INOC	ACC	INOC	ACC	INOC	ACC	INOC	ACC
T1 (400-600-300)	86,00 b	94,90 b	388,80 b	474,50 a	279,09 c	340,60 b	754,31 bc	910,00 a
T2 (400-600-900)	70,10 b	82,40 b	422,80 b	353,50 b	239,70 c	210,20 c	732,60 c	645,19 bc
T3 (400-1800-300)	154,40 a	64,10 c	581,10 a	504,70 a	370,70 b	432,60 a	1106,19 a	1001,44 a
T4 (400-1800-900)	127,70 a	103,90 ab	585,10 a	497,10 a	428,30 a	400,10 a	1141,17 a	1001,22 a
T5 (1200-600-300)	33,00 c	125,90 a	375,50 b	495,80 a	282,20 c	306,90 b	769,76 bc	928,54 a
T6 (1200-600-900)	155,50 a	53,70 c	455,90 a	302,60 b	279,90 c	389,00 ab	891,31 bc	746,25 bc
T7 (1200-1800-300)	34,60 c	100,20 ab	435,50 a	369,40 b	326,60 b	397,20 ab	796,71 bc	865,81 b
T8. (1200-1800-900)	34,90 c	46,70 c	379,10 b	589,80 a	382,60 b	460,50 a	796,69 ab	1096,94 a
R ²	44	60	43	55	40	65	49	75
C.V. (%)	69	40	28	30	36	25	22	14

Los promedios con letras iguales no son significativamente diferentes ($p < 0,05$), según la prueba de Duncan.

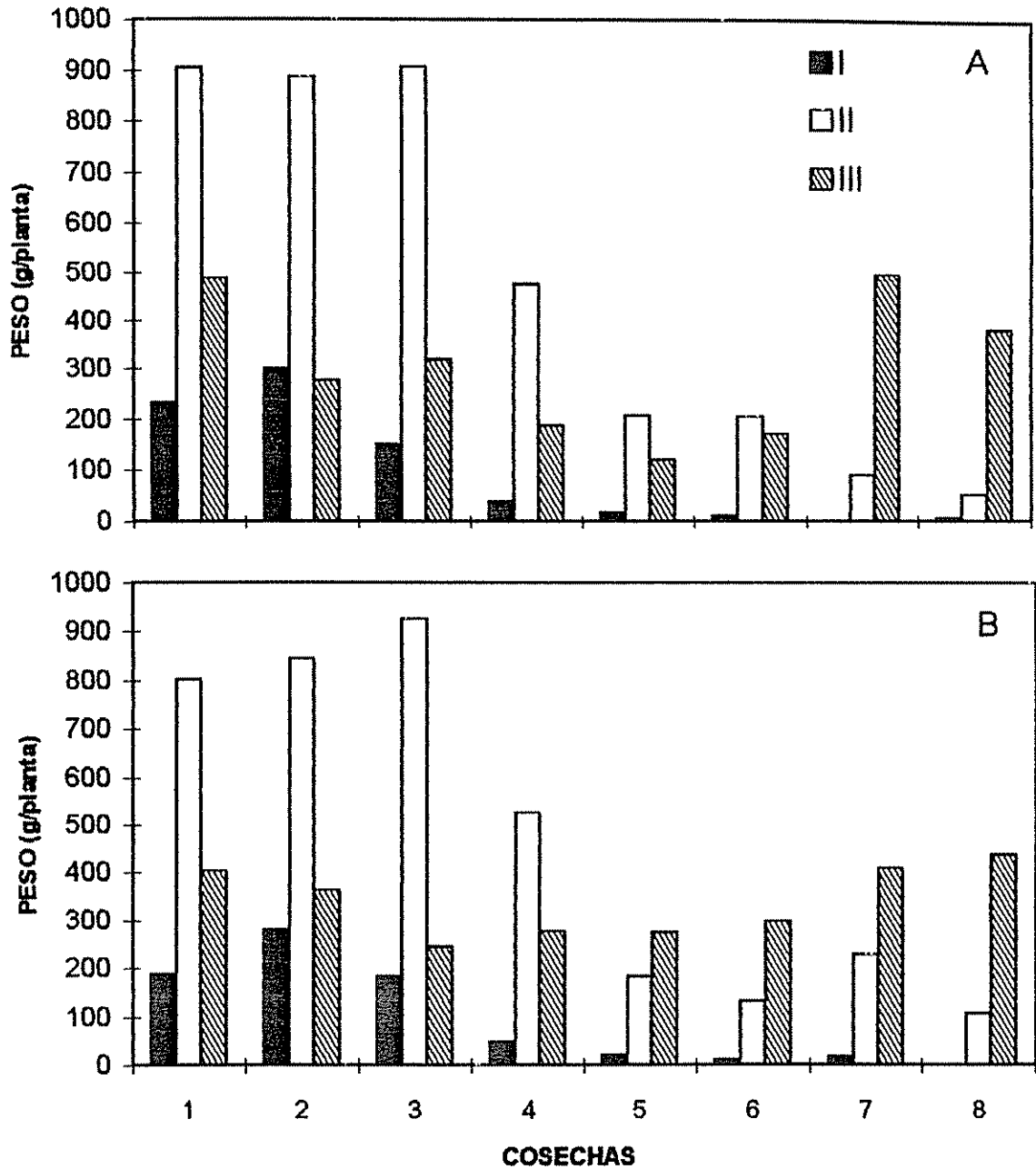


Figura 5. Distribución temporal de la cosecha de tomate por clases de frutos, para los tratamientos inoculados deliberadamente (A) y accidentalmente (B). Datos consolidados para todos los tratamientos.

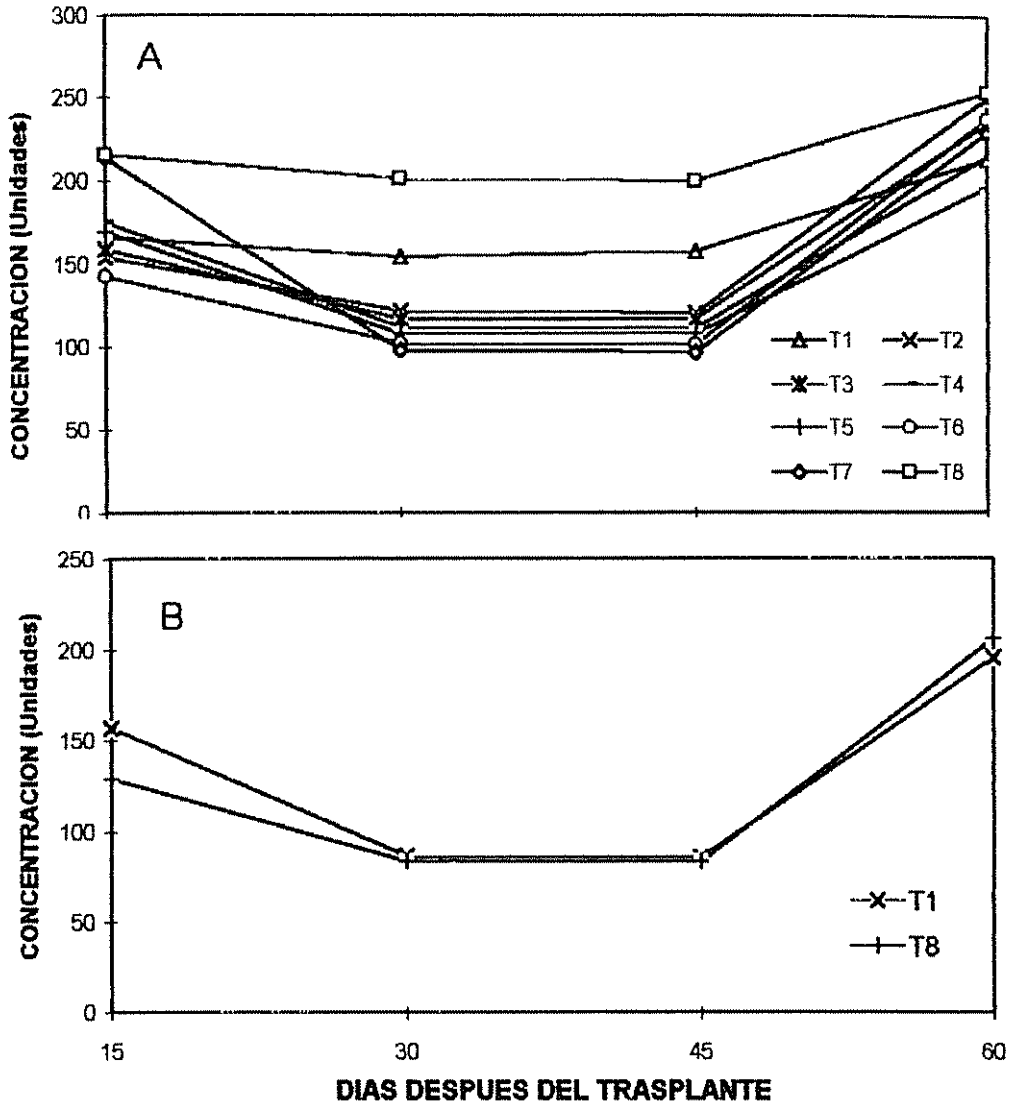


Figura 6. Promedios de la concentración de ADN viral, según tratamientos inoculados deliberadamente (A) y accidentalmente (B).

V DISCUSION

Las plantas medían 35,5 cm, en promedio, al ser trasplantadas. Esta buena altura se debió a su manejo en el almácigo. Influyeron positivamente el microclima dentro de los túneles con malla y el sustrato, especialmente el fertilizante de liberación lenta, que aportó los elementos necesarios según la planta los necesitaba. Las plantas tuvieron excelente porte. El almácigo cubierto por 30 días aparentemente no afectó el ingreso de la energía lumínica, por lo cual no hubo elongación del tallos. El valor de altura y las características de las plantas se acercaron a los de Cubillo *et al.* (1994), que utilizaron la misma metodología.

El crecimiento en todos los tratamientos fue normal. Los promedios finales de altura, 1,65 y 1,79 m en los INOC y ACC, respectivamente, superaron a los típicos encontrados en el campo para la var. Hayslip (Evo y Hilje 1993). Esto posiblemente se debe a múltiples factores, tales como la respuesta positiva al fraccionamiento de la fertilización, semanalmente; la eficiencia en el aprovechamiento del fertilizante, al utilizarse fuentes originales de nutrientes; su localización cercana al sistema radicular; frecuencia del riego; suficiente humedad del suelo (a capacidad de campo); pH favorable (5,2); textura del suelo franco-arenosa; y buen contenido de materia orgánica (2%) (Anexo 1). Además, por no haber competencia por el espacio de suelo con otras plantas ni con malezas, cada planta exploró un volumen individual de suelo. El riego controlado, de 1- 2,5 l/planta (Anexo 1) también evitó la lixiviación de nutrientes. La temperatura (18-26 °C) y humedad relativa (78%) fueron favorables (Ulloa 1978, Cemeño 1982), aunque ocasionalmente fueron de 30-32 °C, cerca del mediodía, durante casi todo el experimento.

Es posible que parte del crecimiento se debiera al elongamiento o etiolación de las plantas, por falta de luz. En los primeros 20 ddt, los entrenudos fueron largos. Aunque el techo era completamente transparente, la cantidad de luz dentro del invernadero posiblemente nunca fue de 100%; en el interior generalmente se aprovecha un 80% (Mármol 1991). Además, hubo mucha auto-sombra por la abundante producción de follaje, a pesar de haberse simulado los distanciamientos del campo (0,30 x 0,90 m). Por tanto, la altura y buen porte de las plantas no

pareció concordar con la producción de biomasa, sino que probablemente se debió a las razones mencionadas.

El mayor crecimiento, aunque leve, de los ACC (Fig. 1) posiblemente se debió a que éstos fueron inoculados más tarde, accidental y aleatoriamente, y quizás no todos el mismo día. Dicha inoculación posiblemente se debió a que algunos adultos de *B. tabaci* virulíferos escaparon de las jaulas de inoculación, o a que ingresaran desde un invernadero donde se mantienen colonias para experimentos. Durante los muestreos, en los primeros 20 ddt, a veces se observaron apenas 2-3 adultos en todo el invernadero, a pesar de las aplicaciones de endosulfán. Estos datos sustentan aún más lo observado en el campo, donde con menos de un adulto por planta, en promedio, las parcelas de tomate alcanzan el 100% de virosis (Hilje *et al.* 1993a, Quirós *et al.* 1994).

En los INOC, asumiendo que no fueron infectados con el virus en el almácigo, la severidad de la enfermedad se expresó más temprano y alcanzó valores mayores que en ACC (Fig. 1B). Los síntomas se expresaron más fuertemente antes de 21 y 28 ddt en INOC y ACC, respectivamente, cuando las plantas estaban en una etapa muy activa de crecimiento vegetativo (Demolon 1972, Bidwell 1979). Esto sugiere que el incremento en la actividad metabólica de la planta favorece la multiplicación del virus, el cual depende enteramente del metabolismo de la planta (Zaitlin y Hull 1987). No obstante, la severidad nunca fue superior a 3 (Anexo 8), por lo que no hubo efectos drásticos en el crecimiento, a pesar de que después de 14 ddt el mosaico estaba en casi el 100% de la plantación. Esto podría deberse, además de los fertilizantes y su aplicación fraccionada, a la protección que se dio a las plantas en el almácigo con mallas durante los primeros 30 días, ya que esto permitió obtener plantas libres de geminivirus.

No hubo relación entre la severidad y la concentración de ADN viral. La primera aumentó progresivamente, según el desarrollo de la planta y se estabilizó a 63 ddt (Figs. 1, 6), mientras que la segunda mostró altibajos, con su máximo valor a 60 ddt (Anexo 12). La diferencia entre este valor y el inicial fue leve. Podría ser que la concentración disminuya conforme la planta madura (Kaplan y Bergman 1985), además es posible que el virus se reproduce poco y debe

"repartirse" entre más biomasa (P. Ramírez CIBCM, Universidad de Costa Rica 1995, com. pers.), en contraste a lo anterior Lastra (1993) reportó que el número de partículas de geminivirus como resultado de la infección, es relativamente pequeño y no tiene relación con la severidad de las plantas afectadas.

Su poca diferencia entre los tratamientos podría deberse al efecto inmediato del fertilizante, así como a la edad de la planta, parte de la planta muestreada; pese a que se muestreó la misma parte, el tamaño de la muestra (0,5-1 g) la que no era de una planta sino que estuvo formada por el tejido de cuatro plantas, por lo que las concentraciones por planta podrían ser variables, quizás por efecto de dilución de la concentración del ADN viral (Kaplan y Bergman 1985).

Su disminución entre 30-45 ddt posiblemente se debió a que las plantas habían iniciado la floración (a 33 ddt, 95% de las flores estaban abiertas), y en esta época se manifiesta una reducción en la concentración de P, K, Ca y Mg (Anexos 9 y 10). Ello indica que a partir de la floración e inicio de la fructificación, la absorción de estos nutrimentos se incrementa cuantiosamente, ya que en estas etapas hay gran demanda de éstos (Copper 1972, Fernández *et al.* 1975, Richards *et al.* 1979), causando mucho transporte de fotoasimilados y minerales hacia las flores y frutos; además hay redistribución de los nutrimentos (N, P, K principalmente), a los demás órganos de la planta. Por lo tanto, es posible que dicha disminución también se debiera a la competencia por los nutrimentos entre la planta y el virus, que utiliza aquéllos para su síntesis, multiplicación y dispersión. Para 60 ddt había muchos frutos formados, en pleno crecimiento y maduración. En esta etapa hay gran translocación de N, P, K y Mg hacia los frutos (Cerdas y Bertsch 1989, Geoffrey *et al.* 1987), lo que quizás hizo que la concentración de ADN viral en la hoja muestreada mantuviera valores cercanos a los de 15 ddt.

No es posible afirmar si algún elemento en particular afectó la concentración del ADN viral, pues realmente hubo interacción entre ellos, quizás aportando una nutrición completa y balanceada, favorecida por la aplicación fraccionada del fertilizante, según la curva de absorción del cultivo. Además, al existir suficiente cantidad o exceso de nutrimentos se pudo satisfacer las necesidades tanto del virus como de la planta. La respuesta de las plantas fue evidente, al

reducirse la severidad de la enfermedad (los mosaicos y el encrespamiento foliar fueron leves y no hubo enanismo) y lograr mayor crecimiento y vigor, aunque cerca de 33 ddt decreció la concentración de nutrimentos, no hubo síntomas de deficiencias (clorosis, manchas púrpuras o enanismo). Podría ser que esta concentración no sea deficiente en esta etapa de desarrollo. Kaplan y Bergman (1985) documentaron que la nutrición de plantas infectadas con virus puede atenuar sus efectos, en comparación con aquellas plantas con nutrición deficiente.

Las diferencias en la concentración de N, P, K, Ca, Cu, Mn y Zn entre las épocas de muestreo, quizás obedeció a que el requerimiento y absorción que la planta hace es diferente en distintas épocas. En los primeros 30 ddt las plantas están en pleno desarrollo vegetativo, por lo que las demandas por nutrimentos específicos varían (Malavolta 1989, Benton *et al.* 1991). Por ejemplo, el N se requiere en baja cantidad inicialmente, pero su demanda aumenta mucho durante la fructificación (Porte 1959, Geoffrey *et al.* 1987). Sin embargo, salvo a 33 ddt, cuando hubo disminución de casi todos, la mayoría de los nutrimentos tuvo concentraciones de 4-6%, intermedias, comprendidas entre los ámbitos de tolerancia para cada una de las épocas de muestreo (Benton *et al.* 1991).

El Mg decreció notoriamente (Cuadro 3, Fig. 3, Anexo 9) desde 18 ddt y sobre todo a 33 ddt. Este es absorbido en pequeñas cantidades por la planta de tomate, manteniéndose así durante casi todo el ciclo (Gargantini *et al.* 1963, Bertsch 1980). Ello podría explicarse por la acción negativa del geminivirus sobre la clorofila, ya que el Mg ocupa la parte central de esta molécula (Bidwell 1979, Bertsch 1995). Al ser reducida la clorofila por la acción del virus y destruidos los cloroplastos, el Mg no tiene dónde actuar y es aprovechado por el virus en la síntesis de proteínas (Alwyn *et al.* 1992, Leal y Lastra 1984), lo que origina mosaicos en las hojas (Hull 1987), tal y como se observó.

Los niveles de microelementos no fueron manipulados en esta investigación. Ellos son muy importantes como activadores enzimáticos y casi siempre necesarios para que los macroelementos actúen (Bidwell 1979). Fueron los nutrimentos con concentraciones más altas,

debido a sus aplicaciones foliares cada dos semanas y, en menor grado, talvez a su contenido en el sustrato original (Anexo 1).

Algunos virus reducen el contenido elemental de las plantas (Kaplan y Bergman 1985). Sin embargo, estos datos indican lo contrario, pues la concentración de los nutrimentos bajó únicamente a 33 ddt (Anexo 9 y 10). Es probable que las altas cantidades de fertilizantes aplicados evitaran la reducción del contenido elemental. Quizás el virus causó una reducción, pero debido al fertilizante y su patrón de aplicación (curva de absorción), no afectó seriamente el metabolismo de la planta.

Por la alta fertilización aplicada, se esperaba que la concentración de nutrimentos en el follaje fuera intermedia, a pesar de su utilización por el virus. No obstante, fue baja también porque las plantas se desarrollaron mucho en altura y biomasa (hojas, tallos y frutos) y estos tejidos posiblemente consumieron la mayoría de los nutrimentos. Con la alta fertilización se logró compensar el estrés por nutrimentos causado por el virus. Al incrementar los niveles de nutrimentos requeridos, posiblemente se aumentó la tolerancia de las plantas, y ello les permitió defenderse con rapidez de los efectos secundarios de la infección viral, considerando que el estrés por nutrimentos aumenta la susceptibilidad al geminivirus, al disminuir sus defensas (Huber 1980, Agrios 1988, Graham 1983). Por otra parte, Huber (1980) y Kaplan y Bergman (1985) mencionan que las plantas con virus responden mejor a una alta fertilización que cuando reciben fertilizante por debajo de las cantidades requeridas.

Quizás en un estudio donde se aplique cada elemento por separado se podría visualizar mejor el efecto del N-P-K sobre el geminivirus (si aumenta o disminuye la concentración de ADN viral o de los nutrimentos). No obstante, hay que considerar que los nutrimentos interactúan y pueden tener efecto sinérgico, siempre y cuando la nutrición sea adecuada (Bertsch 1995, Bidwell 1979), lo que significa que un elemento en particular puede favorecer la disponibilidad de otro, o facilitar su absorción (Malavolta 1989, Bertsch 1995).

Los mayores valores de biomasa total para T3 y T4 (INOC) posiblemente se debieron a la interacción del fósforo con los otros elementos. Ambos contenían las dosis más elevadas de fósforo, el cual acelera el desarrollo radicular, lo que favorece la captación y absorción de otros nutrimentos (Bidwell 1979, Geoffrey *et al.* 1987, Bertsch 1995), como el nitrógeno y potasio. El fósforo es resistente al lavado y no se volatiliza, pero es fácilmente fijado, lo que causa deficiencias de disponibilidad. Por ello se aplica en mayor cantidad que el N y K (Geoffrey *et al.* 1987, Bertsch 1995). En todos los tratamientos, tanto INOC como ACC, la mayor proporción de biomasa se debió al follaje, pues las plantas se desarrollaron vigorosamente y, al no ser afectadas por el encrespamiento, su capacidad fotosintética quizás no se alteró.

El P y K inicialmente fueron más absorbidos (Fig. 3). En las primeras etapas de desarrollo de la planta, el N, P y K son utilizados principalmente por las hojas. El N favorece la producción de follaje, por lo que inicialmente debe aplicarse en baja cantidad, para evitar el exceso de follaje, en contraste con el P y K (Cerneño 1982, Bertsch 1995). El K activa a varias enzimas involucradas en la síntesis proteica y el metabolismo de carbohidratos, es clave en el transporte de fotoasimilados por el floema, aumenta la resistencia a enfermedades, y mantiene la turgencia de la planta (Bidwell 1979, Huber 1980, Geoffrey *et al.* 1987, Bertsch 1995).

Los primeros frutos se presentaron a 42 ddt. En su producción la planta invierte gran cantidad de fotoasimilados (Cadahia *et al.* 1965, Geoffrey *et al.* 1987), lo cual explica que ocuparan el segundo lugar en biomasa. Fueron superados por el follaje, posiblemente debido a la fertilización con nitrógeno, que fue el elemento más absorbido desde 3 ddt (Fig. 3). También, es posible que la cantidad de hojas tenga que ser mayor para que la planta pueda sostener esta cosecha (Marco V. Gutiérrez 1995 Universidad de Costa Rica, com. pers.). Por su gran volumen, las hojas y pecíolos quizás retuvieron mucho nutrimento, limitando su translocación hacia los frutos.

Por otra parte, hay que considerar que a el cultivo, no se le efectuó ningún tipo de deshija, la planta permaneció con 3 y 4 ejes; situación que en el campo no se presenta, pues el agricultor acostumbra a deshijar y dejar solamente uno o dos ejes. Esta práctica se realiza con el objetivo

de que los nutrimentos sean mejor aprovechados y que los fotoasimilados se distribuyan principalmente en la producción de frutos.

Los mayores rendimientos también se obtuvieron en T3 y T4 (INOC) (Fig. 4), con 1,10 y 1,14 kg/planta, respectivamente. Como se indicó para la biomasa, ello posiblemente obedeció a los altos niveles de fósforo y su interacción con los otros elementos. No obstante, también influyó la etapa fenológica, ya que entre 35-42 ddt, cuando las plantas medían 120-140 cm (Fig. 1), se dio la mayor absorción de P, por la gran demanda propia de la etapa de llenado de frutos.

Los rendimientos de T3 y T4 (INOC) equivalentes a 40,74 y 42,22 t/ha fueron superiores al promedio nacional, que es de 25-30 t/ha (Gustavo Calvo 1995, CATIE, com. pers.) debido a las condiciones controladas en que se desarrolló el cultivo. Sin embargo, hubo poca producción (13 y 11,19%) de tomate clase I, la más importante comercialmente. Típicamente, dicha clase corresponde al 55-65% del rendimiento total (Arias y Hilje 1993, Quirós *et al.* 1994). Esta desproporción entre clases podría deberse a varios factores. En primer lugar, durante el llenado de los frutos la profusión de flores continuó y la planta tenía gran cantidad de frutos de varias edades, lo que quizás desbalanceó la asignación de fotoasimilados, demandados por los frutos pequeños, el abundante follaje y el llenado de nuevos frutos. En segundo lugar, la utilización de los nutrimentos por parte del virus y el daño mismo de éste, podría haber reducido el tamaño de los frutos, aún en tratamientos ricos en fósforo, como T3 y T4 (INOC). Finalmente, se debe considerar que la luz podría haber sido una limitante para la producción, para una variedad como Hayslip, que no está adaptada para producir comercialmente en invernaderos.

En contraste con este experimento, en que se aplicaron los fertilizantes según la curva de absorción del cultivo, en el campo se aplican cada 15-20 días, según la época y modalidad de siembra (directa o trasplante), floración y fructificación (CATIE 1990), por razones de costos. No obstante, en muchos casos la fertilización de las plantas es deficiente o se sobrefertiliza (Mario Saborío 1994, Costasol S.A., com. pers.). Posiblemente las plantas no siempre aprovechan los nutrimentos cuando más los necesitan, no solo por los intervalos de aplicación más espaciados y por no haber fraccionamiento, sino también porque hay lixiviación, fijación,

volatilización (para el N), así como competencia con malezas y el mismo cultivo. Otra ventaja que tuvieron las plantas en el experimento, fue que se les protegió de geminivirus con malla durante los primeros 30 días de edad, cuando según la curva de absorción, necesitaban más los nutrimentos (Anexo 4).

Estos resultados sugieren que gran parte del manejo del complejo *B. tabaci*-geminivirus, se debe orientar a la utilización de almácigos cubiertos durante los primeros 30 días del cultivo y, por 60 días más, establecer un régimen de fertilización fraccionada, según la curva de absorción de nutrimentos. Esto debe ser validado en parcelas de agricultores, para valorar su potencial de adopción, así como los costos económicos de estas tecnologías.

VI CONCLUSIONES

- La fertilización con dosis altas de N-P-K, fraccionada y según la curva de absorción del cultivo, permitió atenuar la severidad del mosaico amarillo del tomate y obtener rendimientos satisfactorios. Sin embargo, predominó la categoría comercial II, y la I estuvo poco representada.
- Los mayores rendimientos se obtuvieron en los tratamientos ricos en fósforo.
- No hubo relación entre la concentración de ADN viral y la severidad de la enfermedad.

VII RECOMENDACIONES

- Validar en parcelas de agricultores los mejores tratamientos, incluyendo la consideración de su costo económico.
- Estudiar la respuesta de los mejores tratamientos, para tomate de siembra directa.
- Evaluar los mejores tratamientos en cuanto a su potencial de producción comercial en invernaderos, con variedades adaptadas a éstos o adaptando nuevos cultivares.
- Determinar, bajo estrictas medidas de aislamiento de las plantas, el efecto independiente de cada nutrimento sobre el geminivirus, usando soluciones hidropónicas.
- Establecer, para experimentos de invernadero, un método que excluya absolutamente a *B. tabaci*, y que no afecte el desarrollo de las plantas de tomate, para contar con testigos verdaderamente contrastantes con los tratamientos evaluados.
- Incrementar, dentro de las posibilidades presupuestarias, el número de muestras para los análisis de nutrimentos foliares y concentración de ADN viral.

VI BIBLIOGRAFIA

- ABDELDAFFIE, E. Y. A.; ELHAG, E. A.; BASHIR, N. H. H. 1987. Resistance in the cotton whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.) to insecticide recently introduced into Sudan Gezira. *Tropical Pest Management* (G. B.) 33(4):283-286.
- ACUÑA, W. 1993. Efecto de la infección de un geminivirus sobre el rendimiento del tomate (*Lycopersicon esculentum*) a diferentes estados de desarrollo de la planta. Tesis Lic. Agr. Universidad de Costa Rica, Sede del Atlántico. Turrialba, Costa Rica. 73 p.
- AGRIOS, G. N. 1988. Fitopatología. 5 ed., Ed. LIMUSA México. 756 p.
- AL-MUSA, A. M. 1979. Tomato yellow leaf curl virus in Jordan: Epidemiology and control. *Dirasat* 13(2):199-208.
- _____. 1982. Incidence, economic importance, and control of tomato yellow leaf curl in Jordan. *Plant Disease* 66(7): 561-563.
- ALVAREZ, P.; ALFONSECA, L.; ABUD, A.; VILLAR, A.; ROWLAND, R.; MARCANO, E.; BORBON, C. J.; GARRIDO, L. 1993. Las moscas blancas en República Dominicana. In *Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe*. L. Hilje y O. Arboleda (eds.) CATIE, Turrialba, Costa Rica. Serie Técnica. Informe Técnico No. 205. p. 34-37.
- ALWYN, G. C.; LINDBECK, D.; DENNIS, J. 1992. Mutant coat protein of tobacco mosaic virus induces acute chlorosis in expanded and developing tobacco leaves. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 5(3): 235-241.
- AMADOR, R.; HILJE, L. 1993. Efecto de coberturas vivas e inertes sobre la atracción de la mosca blanca, *Bemisia tabaci* (Gennadius), al tomate. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 29: 14-21.
- ANDERLINI, R. 1970. El cultivo del tomate. 2 ed. Editorial Mundi Prensa, Madrid, España. 207 p.
- ANZOLA, D.; LASTRA, R. 1978. Protección de semilleros de tomate y relación con la incidencia del mosaico amarillo del tomate. *Agronomía Tropical (Venezuela)* 28:473-482.
- _____. 1985. Whiteflies population and its impact on the incidence of tomato yellow virus in Venezuela. *Phytopath. Z.* 112:363-366.
- ARIAS, R.; HILJE, L. 1993. Uso del frijol como cultivo trampa y un aceite agrícola para disminuir la incidencia de virosis transmitida por *Bemisia tabaci* (Gennadius) en el tomate. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*. 27: 27-34.

- ASIATICO, J. M.; ZOEBISCH, T. 1992. Control de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en tomate con insecticidas de origen biológico, y químico. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 24-25: 1-7.
- AZAB, A. K.; MEGAHED, M. M.; EL-MIRSAWI, H. D. 1972. On the biology of *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera Homoptera: Aleyrodidae). Bulletin de la Societe Entomologique d'Egypte 55: 305-315
- BARCELO, J.; NICOLAS, G.; SABATER, B.; SANCHEZ, R. 1983. Fisiología vegetal. 2 ed. Piramide Madrid, España, 813 p.
- BARRETO, M.; CASTELLANE, D. P. 1989. Relacoes entre a nutricao mineral e a incidencia de doencas. Sob Informa (Brasil) 21(2):27-29.
- BAWDEN, F. C.; KASSANIS, B. 1950. Some effects of host nutrition on the susceptibility of plants to infection by certain viruses. Ann. Appl. Biol. (G. B.) 37:46-57.
- BAYER. 1993. ¿Cómo actúan los plaguicidas?. Correo Fitosanitario (Alemania) 1:18-20.
- BELLOWS, T. S.; THOMAS, J. R.; PERRING, M.; GILL, R. J.; HEADRICK, D. H. 1994. Description of a species of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 87(2): 195-206.
- BENTON, J. J.; WOLF, B.; MILLS, A. H. 1991. Plant analysis handbook. A practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide. Ed. Micro-Macro Publishing, Inc. Athens, Georgia (EE. UU.). 191 p.
- BER, R.; NAVOT, N.; ZAMIR, D.; ANTIGNUS, Y.; COHEN, S.; CZOSNEK, H. 1990. Infection of tomato by the tomato yellow leaf curl virus: Susceptibility to infection, symptom development, and accumulation of viral DNA. Arch. Virol. 112:169-180.
- BERGMAN, E. L.; BOYLE, S. J. 1962. Effect of tobacco mosaic virus on the mineral content of tomato leaves. Phytopath. 52(9):956-957.
- BERLINGER, M. J.; DAHAN, R. 1989. Importance of plant resistance in the control of whiteflies and whitefly-borne viruses in tomato and the development of screening methods. In Tomato and pepper: Production in the tropics. T. D. Greggs & B. T. McLean (eds.). Taiwan. AVRDC Publication No. 89-317. p. 239-248.
- BERTSCH, F. 1995. La fertilidad de los suelos y su manejo. 1 ed. San José, C. R. : Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo, 157 p.
- _____ ; GUZMAN, E. 1981. Nutrición mineral de hortalizas: curvas de absorción de nutrientes. Turrialba, Costa Rica, Programa Universidad de Costa Rica/CATIE. 23 p. (Mimeografiado).

- BIDWELL, R. G.** 1979. Fisiología vegetal. 2 ed. Ed. A. G.T. México. 783 p.
- BINK-MOENEN, R. M.; MOUND, L. A.** 1990. Whiteflies: Diversity, biosystematics and evolutionary patterns. *In* Whiteflies: Their bionomics, pest status and management. D. Gerling (ed.). Intercept, Andover UK. p. 1-11.
- BIRD, J.; MARAMOROSCH, K.** 1978. Viruses and virus diseases associated with whiteflies. *Adv. Viruses Res.* 22:55-110.
- BLACK, C. A.** 1968. Relación suelo-planta. 1 ed. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, Arg. 700 p.
- BLANCO, J.; HILJE, L.** 1995. Efecto de coberturas al suelo sobre la abundancia de *Bemisia tabaci* y la incidencia de virosis en tomate. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 35: 1-10.
- BOCK, K. R.** 1982. Geminivirus diseases in tropical crops associated with whiteflies. *Adv. Virus Res.* 22:55-110.
- BONILLA, F.** 1995. Período de adquisición, latencia y transmisión de un geminivirus en tomate por la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 35:11-13.
- BOULD, C.; HEWITT, E. J.; NEEDHAM, P.** 1983. Diagnosis of mineral disorders in plants. Vol. 1. J. B. D. Robinson (ed.). Long Ashton Research Station, University of Bristol, UK. 170 p.
- BROWN, J. K.** 1993. Evaluación crítica sobre los biotipos de la mosca blanca en América, de 1989-1992 *In* Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. L. Hilje y O. Arboleda (eds.). 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 Protection Bull.* 39(1): 3-31p.
- BROWN, J. K.; BIRD, J.** 1992. Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Disease* 76(3):220-225.
- BROWN, J. K.; FROHLICH, D. R.; ROSELL, R. C.** 1995a. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: Biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex. *Ann. Rev. Entomol.* 40: 511-534.

- BROWN, J. K.; BEDFORD, I. D.; BIRD, J.; COSTA, S. A.; 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.
- BRUNT, A. A. 1992.** Transmission of diseases. *In Bemisia tabaci: A literature survey on the cotton whitefly with an annotated bibliography.* M. J. W. Cock (ed.). FAO-CAB-IICA. Ascot, UK. p. 43-50.
- 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). *Jour. Econo. Entomol.* 86(2): 517-522.
- BYRNE, D.; BELLOWS, T. S. 1991.** Whitefly biology. *Ann. Rev. Entomol.* 36:431-457.
- CADAHIA, C.; HERNANDO, V. 1973.** El análisis de savia como índice de fertilización. Estudio comparativo con el análisis foliar. Instituto de Edafología y Biología Vegetal. Madrid (España). 167 p.
- CALVO, G.; BARRANTES, L.; HILJE, L.; SEGURA, L.; RAMIREZ, O.; KOPPER, N.; RAMIREZ, A.; CAMPOS, J. L. 1994.** Un esquema comprensivo y funcional para el manejo integrado de plagas del tomate en Costa Rica. *In Lecturas sobre manejo integrado de plagas.* L. Hilje (comp.). CATIE, Turrialba, Costa Rica. Serie Técnica. Informe Técnico No. 237. p. 58-73.
- CATIE. 1990.** Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo del tomate. Turrialba, Costa Rica. CATIE. Serie Técnica. Informe Técnico No. 151. 138 p.
- CAVE, R. D. 1994.** ¿Es viable el control biológico de un vector de geminivirus, como *Bemisia tabaci*? *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 34:18-22.
- CERDAS, A. C.; BERTSCH, F. 1989.** Concentración y absorción de nutrimentos durante el ciclo de la planta de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cv. Catalina en Alajuela. *Boletín Técnico N° 22 (4).* Estación Experimental Fabio Baudrit (Costa Rica). 12 p.
- CERMEÑO, Z. 1982.** Tomate, pimiento y berenjena en invernadero. 2 ed. Madrid, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación., 257p.
- COCK, M. J. W. 1992.** Other control methods. *In Bemisia tabaci: A literature survey on the cotton whitefly with an annotated bibliography.* M. J. W. Cock (ed.). FAO-CAB-IICA. Ascot, UK. p. 59-61.
- COHEN, S. 1990.** Epidemiology of whitefly-transmitted viruses. *In Whiteflies: Their bionomics, pest status and management.* D. Gerling (Ed.). Intercept, Andover UK. p. 211-225.

- COHEN, S.; BERLINGER, M. 1986. Transmission and cultural control of whitefly-borne viruses. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 17(1-2): 89-97.
- _____. DUFFUS, J. E.; LIU, H. Y. 1992. A new *Bemisia tabaci* biotype in the Southwestern United States and its role in silverleaf of squash and transmission of lettuce infectious yellows virus. *Phytopathology* 82:86-90.
- COMISION NACIONAL DE MOSCA BLANCA. 1993. Las moscas blancas en Nicaragua. *In* Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. L. Hilje y O. Arboleda (eds.). CATIE. Turrialba, Costa Rica. Serie Técnica. Informe Técnico No. 205. p. 54-57.
- COOPER, P.; SELMAN, I. W. 1973. An analysis of the effects of tobacco mosaic virus on growth and the changes in the free amino compounds in young tomato plants. *Ann. Botany* 38: 625-638.
- CORDREY, T. D.; BERGMAN, E. L. 1979. Influence of cucumber mosaic virus on growth and elemental composition of susceptible (*Capsicum annuum* L.) and resistant (*Capsicum frutescens* L.) peppers. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 104(4): 505-510.
- COSTA, A. S. 1969. Whiteflies as virus vectors. *In* Viruses, vectors and vegetation. K. Maramorosch (Ed.). Interscience Publ. New York. p. 95-119.
- COUDRIET, D. L.; PRABHAKER, N.; KISHABA, A. N.; MEYERDIRK, D. E. 1985. Variation in developmental rate on different hosts and overwintering of the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Environ. Entomol.* 14: 516-519.
- CUBILLO, D.; CHACON, A.; HILJE, L. 1994. Producción de plántulas de tomate sin geminivirus transmitidos por la mosca blanca (*Bemisia tabaci*). *Manejo Integrado de Plagas* (Costa Rica) 34:23-27.
- _____. LARRIVA, W.; QUILJE, R.; CHACON, A.; HILJE, L. 1994. Evaluación de la repelencia de varias sustancias sobre la mosca blanca, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Manejo Integrado de plagas* (Costa Rica) 33:26-28.
- DAVIES, J. W.; STANLEY, J. 1989. Geminivirus genes and vectors. *Trends Genet.* 5:77-81.
- DEMOLON, A. 1972. Crecimiento de vegetales cultivados. 2 ed. Barcelona, España, Omega. 587 p.
- DIAZ-ROMEU, R.; HUNTER, A. 1978. Metodología de muestreo de suelos y análisis químico de suelos y tejido vegetal e investigación en invernadero. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 68 p.

- DIENER, T. O. 1963. Physiology of virus-infected plants. *Ann. Rev. Phytopathol.* 1: 197-218.
- DITTRICH, V.; ERNST, G. H.; RUESCH, O.; UK, S. 1990. Resistance mechanisms in sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) populations from Sudan, Turkey, Guatemala, and Nicaragua. *Jour. of Econo. Entomol.* 83(5):1665-1670.
- DUFFUS, J. E. 1987. Whitefly transmission of plant viruses. *Curr. Top. Vector Res.* 4 : 73-91.
- ELMER, J. S.; BRAND, L.; SUNTER, G.; GARDINER, E. E.; BISARO, D. M.; ROGERS, S. G. 1988 Genetic analysis of tomato golden mosaic virus. II. The product of the AL1 coding region is required for replication. *Nucleic Acid Res.* 16:7043-7060.
- EVO, F. P.; HILJE, L. 1993. Importancia del género *Heliothis* (Lepidoptera:Noctuidae) dentro del complejo de gusanos del fruto del tomate en Grecia, Costa Rica. *Manejo Integrado de Plaga (Costa Rica)* 27:35-41.
- FERNANDEZ, P. D.; CHURATA-MASCA, M. G.; OLIVEIRA, G. D.; HAAG, H. P. 1975. Nutricao mineral de hortalias. Absorcao de nutrientes pelo tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.), en cultivo rastreiro. *Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (Bra.)*. 32: 595-607.
- FRANKE, G.; VAN BALEN, L.; DEBROT, E. 1983. Efecto de la época de infección por el mosaico amarillo sobre el rendimiento del tomate. *Rev. Fac. Agronomía Universidad de Zulia (Ven.)* 6(2):741-743.
- FRANSEN, J. J. 1990. Natural enemies of whiteflies: Fungi. *In Whiteflies: Their bionomics, pest status and management*. D. Gerling (ed.). Intercept, Andover UK. p. 187-210.
- FRASER, R. S. S. 1987. *Biochemistry of virus-infected plants*. Research Studies Press Ltd. Letchworth, Hertfordshire, England. 259 p.
- FRY, W. E. 1982. *Principles of plant disease management*. Orlando, Florida. Academic Press. 242 p.
- GALLEGOS, L. M.; DUTARI, A.M. 1980. El cultivo del tomate para consumo fresco en el valle de Culiacán. *Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Culiacán, Sinaloa, México*. 184 p.
- GAMEZ, R. 1971. Los virus del frijol en Centroamérica. Transmisión por moscas blancas (*Bemisia tabaci* Gennadius) y plantas hospedantes del virus del mosaico dorado. *Turrialba* 21(1):22-27.
- GEOFFREY, W. 1987. *Diagnosis of mineral disorders in plants*. Vol. 3. J. B. D. Robinson (ed.). Long Ashton Research Station, University of Bristol, U K. London (G. B.). 168 p.

- GERLING, D. 1986. Natural enemies of *Bemisia tabaci*, biological characteristics and potential as biological control agents: A review. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 17(1-2) : 99-110.
- _____. 1992. Approaches to the biological control of whiteflies. *Florida Entomologist* 75(4): 446-456.
- _____. HOROWITZ, A. R.; BAUMGAERTNER, J. 1986. Autoecology of *Bemisia tabaci* *Agriculture, Ecosystems and Environment* 17 :5-19.
- GILBERTSON, R. L.; FARIA, J. C.; HANSON, S. F.; MORALES, F. J.; AHLQUISTL, P.; MAXWELL, D. P.; RUSSEL, D. R. 1991. Cloning of the complete DNA genomes of four bean-infecting geminiviruses and determining their infectivity by electric discharge particle acceleration. *Phytopathology* 81:980-985.
- GODEFROY-COLBURN, T.; SCHOUMACHER, F.; ERNY, C.; BERNA, A. MOSER, O.; GAGEY, M-J.; AND STUSSI-GARAUD, C. 1990. The movement protein of some plant viruses. Springer-Verlag Berlin Heidelberg NATO ASI Series, Vol. 41 p. 207-231.
- _____. 1981. Geminiviruses. *J. Gen. Virol* 54:9-21
- GOODMAN, R. N.; KIRALY, Z.; ZAITLIN, M. 1967. The biochemistry and physiology of infectious plant disease. D. Van Nostrand Company, Inc. Princenton, New Jersey (USA). 354 p.
- GRAHAM, R. D. 1983. Effect of nutrient stress on susceptibility of plants to disease with particular reference to the trace elements. *Adv. Bot. Res.* 10: 221- 276.
- GREATHEAD, A. H. 1992. Host plants. In *Bemisia tabaci*: A literature survey on the cotton whitefly with an annotated bibliography. M. J. W. Cock (ed). FAO-CAB-IICA. Ascot, UK. p. 17-25.
- GREEN, S. K.; KALLOO, G. 1994. Leaf curl and yellowing viruses of pepper and tomato: an overview. Asian Vegetable Research and Development Center. Technical Bull. No. 21. 51 p.
- HARRISON, B. D. 1985. Advances in geminivirus research. *Ann. Rev. Phytopathology* 23:55-82.
- HILJE, L. 1993. Un esquema conceptual para el manejo integrado de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en el cultivo del tomate. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*. 29:51-57.

- HILJE, L. 1995. Aspectos bioecológicos de *Bemisia tabaci* en Mesoamérica. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica). 35:46-54.
- _____; ARBOLEDA, O. (eds.) 1993. Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. CATIE. Serie Técnica. Informe Técnico No. 205. 66 p.
- _____; CUBILLO, D.; SEGURA, L. 1993a. Observaciones ecológicas sobre mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica). 30:24-29.
- _____; LASTRA, R.; ZOEBSCH, T.; CALVO, G.; SEGURA, L.; BARRANTES, L.; ALPIZAR, D.; AMADOR, R. 1993b. Las moscas blancas en Costa Rica. *In*. Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. L. Hilje y O. Arboleda (eds.). CATIE, Turrialba, Costa Rica. Serie Técnica. Informe Técnico No. 205. p. 58-63.
- HOROWITZ, A. R.; TOSCANO, N. C.; YOUNGMAN, R. R.; KIDO, K.; KNABKE, J. J.; GEORGHIU, G. P. 1988. Synergism: Potential new approach to whitefly control. *California Agriculture* 42(1): 21-29.
- HUBER, D. M. 1980. The role of mineral nutrition in plant defense. *In* Plant Disease. Horsfall J. G. & E. B. Cowling (eds.). New York, Academic Press. Vol. 5, p. 381-406.
- _____. 1994. The influence of mineral nutrition on vegetable diseases. *Hort. Bras. (Brasil)* 12(2): 206-214.
- HULL, R. 1989. The movement of viruses in plants. *Ann. Rev. Phytopathol.* 27:213-240.
- IICA. 1991. Taller Regional Centroamericano y Consulta sobre Planificación de Investigación Hortícola. (5-8 Noviembre, Coronado, Costa Rica). 250 p.
- IOANNOU, N. 1985. Yield losses and resistance of tomato to strains of tomato yellow leaf curl and tobacco mosaic viruses. Agricultural Research Institute, Cyprus. Technical Bulletin N°. 66. 11 p.
- JIMENEZ, O. F. 1994. Resumen acumulado de datos agroclimáticos. Turrialba, Costa Rica, CATIE. (Mimeografiado)
- JIMENEZ, J. M.; BUSTAMANTE, E.; BERMUDEZ, W.; GAMBOA, A. 1988. Respuesta de líneas de tomate a *P. solanacearum* y a *A. solani* en el trópico húmedo de Costa Rica. *In* Memoria Reunión de Fitopatología (28, San Andres, Colombia). p.5.
- KAPLAN, C. R.; BERGMAN, L. E. 1985. Virus infection and nutrient elemental content. A review. *Soil Sci. Plant Anal.* 439-435.

- KARP, G. 1987.** Biología celular. México, McGraw-Hill. 950 p.
- KING, A.B.S.; SAUNDERS, J. L. 1984.** Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. Londres, ODA. 182 p.
- KIRALY, Z. 1976.** Plant disease resistance as influenced by biochemical effects of nutrients in fertilizers. *In* Fertilizer use and plant health. Bern, Switzerland. International Potash Institute. p. 33-46.
- LASTRA, R. 1987.** Algunas virosis de importancia agrícola en la América Tropical. *In* Curso de áfidos. Artículos selectos sobre áfidos y su importancia económica en la agricultura de Centroamérica. J. Pinochet y D. Quintero (eds.). CATIE Panamá, Informe Técnico No. 125. p. 63-69.
- _____. 1990. Mosaico amarillo del tomate y su importancia en Centroamérica. *In* Annual Meeting. American Phytopathological Society (30, Mayaguez, Puerto Rico). Resumen.
- _____. 1993. Los geminivirus: Un grupo de fitovirus con características especiales. *In* Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. L. Hilje y O. Arboleda (eds.). CATIE, Turrialba, Costa Rica. Serie Técnica. Informe Técnico No. 205. p. 16-19.
- LATERROT, H. 1992.** Resistance genitors to tomato yellow leaf curl virus (TYLCV). Tomato Leaf Curl Virus Newsletter 1: 2-4.
- LEAL, N.; LASTRA, R. 1984.** Altered metabolism of tomato plants infected with tomato yellow mosaic. *Physiological Plant Pathology* 24:1-7.
- LOPEZ-AVILA, A. 1992.** Taxonomy and biology. *In* *Bemisia tabaci*: A literature survey on the cotton whitefly with an annotated bibliography. M. J. W. Cock (ed.). FAO-CAB-IICA. Ascot, UK. p. 3-11.
- MACQUARE, G.; CANDRESSE, T.; DUNEZ, J. 1991.** Detection of plantviruses and viroids by molecular hybridization. *In* Graft-transmissible disease of citrus. Handbook for detection and diagnosis. Roistacher. Roma, FAO. IOCV-FAO. p. 217-232.
- MAELZER, D. A. 1986.** Integrated control of insect vectors of plant virus diseases. *In* Plant virus epidemics. G. D. McLean, R. G. Garret & W. G. Ruesink (eds.). (Sydney). Academic Press. p. 483-512.
- MALAVOLTA, E. 1989.** Avaliacao do estado nutricional das plantas: principios e aplicacoes. Piracicaba . Asociacao Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato. 201 p.
- MARMOL, R. J. 1991.** Cultivo de la berenjena en invernadero. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentacion Madrid, España. 199 p.

- MARTIN, C. 1976. Nutrition and virus diseases of plants. *In* Fertilizer use and plant health. International Potash Institute. Bern, Switzerland. p. 193-200.
- MATTHEWS, G. A. 1992. Overview of chemical control. A literature survey on the cotton whitefly with an annotated bibliography. M. J. W. Cock (ed.). FAO-CAB-IICA. Ascot, UK. p. 55-58
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA (MAG). 1983. Manual de recomendaciones. Cultivos agrícolas de Costa Rica. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Boletín Técnico No. 62. 234 p.
- MIRANDA, G. R.; GUERRERO, J. J. 1994. Horticultura orgánica: Una guía basada en la experiencia en Laguna de Alfaro Rutz. San José, Costa Rica. 76 p.
- MOUND, L. A. 1983. Biology and identity of whitefly vectors of plant pathogens. *In* Plant virus epidemiology. R. T. Publications, London. p. 305-313.
- _____. 1984. Zoogeographical distribution of whiteflies. *In* Current topics in vector research. Vol. 2. K. F. Harris (ed.). Praeger Publishers. New York. p. 185-197.
- NAKHLA, M. K.; MAXWELL, M. D.; HIDAYAT, S. H.; LANGE, D. R.; LONIELLO, A. O.; ROJAS, M. R.; MAXWELL, D. P.; KITAJIMA, E. W.; ROJAS A.; ANDERSON, P.; GILBERTSON, R. L. 1994. Two geminiviruses associated with tomatoes in Central America. *Phytopathology* 84 (10): 1072. (Abstr.)
- NARESH, J. S.; NENE, Y. L. 1980. Host range, host preference for oviposition and development and the dispersal of *Bemisia tabaci* Gennadius, a vector of several plant viruses. *Indian J. agric. Sci.* 50(8): 620-623.
- PALTI, J. 1981. Cultural practices and infectious crop diseases. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg, New York. 243 p.
- PERALTA, L.; HILJE, L. 1993. Un intento de control de *Bemisia tabaci* con insecticidas sistémicos incorporados a la vainica como cultivo trampa, más aplicaciones de aceite en el tomate. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 30: 21-23.
- POLSTON, J. E.; BOIS, D.; SERRA, C. A.; CONCEPCION, S. 1994. Tomato yellow leaf curl-like geminivirus detected *In* Dominican Republic. *Phytopathology* 84 (10): p. 1072. (Abstr.)
- PRABHAKER, N.; COUDRIET, D. L.; MEYERDIRK, D. E. 1985. Insecticide resistance in the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Jour. Econ. Entomol.* 78:748-752.
- PROKOPY, R. J. & OWENS, E. D. 1983. Visual detection of plants by herbivorous insects. *Ann. Rev. Entomol.* 28: 337-364.

- QUERCI, M. 1990. Detección no radiactiva de PSTVd (NON RADNASH). Perú, CIP. 10 p.
- QUIROS, C. A.; RAMIREZ, O.; HILJE, L. 1994. Participación de los agricultores en adaptar y evaluar tecnologías de semilleros contra la mosca blanca (*Bemisia tabaci*), en tomate. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 34:1-7.
- RAMIREZ, P.; MAXWELL, D. 1995. Geminivirus transmitidos por moscas blancas. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 36:22-27.
- RICHARDS, D.; GOUBRANS, F. H.; COLLINS, K. E. 1979. Root-shoot equilibria in fruiting tomato plants. *Ann. of Bot (U. K.)* 43(3): 401-404.
- RIVAS, G. G.; LASTRA, R.; HILJE, L. 1994. Retardo de la virosis transmitida por *Bemisia tabaci* (Gennadius) en tomate mediante semilleros cubiertos. *Manejo Integrado de plagas (Costa Rica)* 31:12-16.
- _____; RAMIREZ, P.; CUBILLO, D.; HILJE, L. 1995a. Translocación y cuantificación de geminivirus asociados con mosaico amarillo del Tomate. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* (En prensa).
- _____; RAMIREZ, P.; CUBILLO, D.; HILJE, L. 1995b. Detección de virus en plantas silvestres asociadas con el tomate y chile dulce en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* (En prensa).
- ROBINSON, D. J. 1988. Prospects for the application of nucleic acid probes in plant virus detection. *In Brighton Crop Protection Conference-Pest and Diseases. November 24-28 England, Brighton Centre and Brighton Metropole.* p. 805-809.
- ROSSET, P. M. 1986. Aspectos ecológicos y económicos del manejo de plagas y los policultivos de tomate en América Central. Ph. D. Thesis. Trad. por L. Babbar, E. Tovar, y P. Rosset. *Ann. Arbor, Michigan, Institute for the Development of Agricultural alternatives.* 128 p.
- _____; MENESES, R.; LASTRA, R.; GONZALEZ, W. 1990. Estimación de pérdidas e identificación del geminivirus transmitido al tomate por la mosca blanca *Bemisia tabaci* Gem. (Homoptera: Aleyrodidae) en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 15:24-34.
- SABORIO, M. M. 1994. Control fitogenético del complejo mosca blanca-virus. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 34:36-40.
- SALAZAR, F. 1990. Detección de viroides y virus con técnicas de ADN recombinantes. *In Cultivos de tejidos en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones.* M. W. Roca; y M. Roginski (eds). Cali, Colombia, CIAT. p. 877-885.

- SALAZAR, F.; QUERCI, M. 1992.** Detection of viroids and viruses by nucleic acid probes. *In* Techniques for the rapid detection of plant pathogens. J. M. Duncan, L. Torrance (eds). Blackwell Scientific Publications. p. 129-144.
- SALGUERO, V. 1993.** Perspectivas para el manejo del complejo mosca blanca-virosis *In* Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. L. Hilje y O. Arboleda. (eds.). CATIE, Turrialba, Costa Rica. Serie Técnica. Informe Técnico No. 205. p. 63-69.
- SALISBURY, B. F.; ROSS, C. W. 1992.** Plant physiology. 4 ed. Wadsworth Publishing Company. Belmont, California. 682 p.
- SANCHEZ, J. M.; GAJIRO, A. C. 1991.** Moscas blancas *Trialeurodes vaporariorum* y *Bemisia tabaci*. *In* Plagas del tomate, bases para el control integrado. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Madrid, España. p. 37-44.
- SCHUSTER, D. J.; PRICE, J. F.; KRING, J. B.; EVERETT, P. H. 1989.** Integrated management of the sweetpotato whitefly on the commercial tomato. Bradenton GCREC Research Report BRA. 1989-12 IFAS, University of Florida. 22 p.
- _____; **KRING, J. B.; PRICE, J. 1991.** Association of the sweetpotato whitefly with a silverleaf disorder of squash. Hort. Science 26(2):155-156.
- SAS INSTITUTE INC. 1985.** SAS User guide: Statistics, Version 5 ed. Cary, NC, SAS Institute Inc. 956 p.
- SEAKER, E. M.; BERGMAN, E. L.; ROMAINE, C. P. 1982.** Effects of magnesium on tobacco mosaic virus-infected eggplants. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 107(1): 162-166.
- SERRANO, C. L.; SERMEÑO, M. J.; LARIOS, F. J. 1992.** Las moscas blancas en El Salvador. *In* Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) América Central y el Caribe. L. Hilje y O. Arboleda. (eds.). CATIE, Turrialba, Costa Rica. Serie Técnica. Informe Técnico No. 205. p. 42-47.
- SMITH, P. 1993.** Control of *Bemisia tabaci* and the potential of *Paecilomyces fumosoroseus* as a biopesticide. Biocontrol News & Information 14:71-78.
- SPENCER, E. L. 1942.** Specific biological activity of tobacco mosaic virus as influenced by age of lesion and nitrogen supply. Plant Physiol. 17:210-222.
- SPONAGEL, W. K.; FUNEZ, R. M. 1994.** Estrategias probadas de manejo del complejo fitosanitario mosca blanca-virus gemini en la producción de tomate. Manual de recomendaciones Fundación Hondureña de Investigación Agrícola. La Lima, Honduras. 43 p.

- STANLEY, J. 1985. The molecular biology of geminiviruses. *Adv. Virus Res.* 30:139-177.
- TOSI, J. A. 1969. 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.
- TRADOULSI, R. 1994. *Bemisia tabaci*: A report on its pest status with particular reference to the Near East. *FAO. Plant Protection Bulletin.* 42(1-2): 33-57.
- ULLOA, M. S. 1978. Análisis de la producción de tomate en invernadero. Tesis Lic. Agr. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 21 p.
- UZCATEGUI, R. C.; LASTRA, R. 1978. Transmission and physical properties of the causal agent of Mosaico Amarillo del tomate (Tomato Yellow Mosaic). *Phytopathology* 68:985-988.
- VAN LETEREN, J. C.; NOLDUS, J. J. 1990. Whitefly-plant relationships: Behavioral and ecological aspects. *In* Whiteflies: Their bionomics, pest status and management. D. Gerling (ed.). Intercept, Andover UK. p. 47-90.
- WILCOX, G. E.; LANGSTON, R. 1960. Effect of starter fertilization on early growth and nutrition of direct-seed and transplanted tomatoes. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 75: 584-529.
- ZATTLIN, M.; HULL, R. 1987. Plant virus-host interactions. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 38:291-31

IX. A N E X O S

Anexo 1. Análisis químico del suelo, previo a la siembra del experimento.

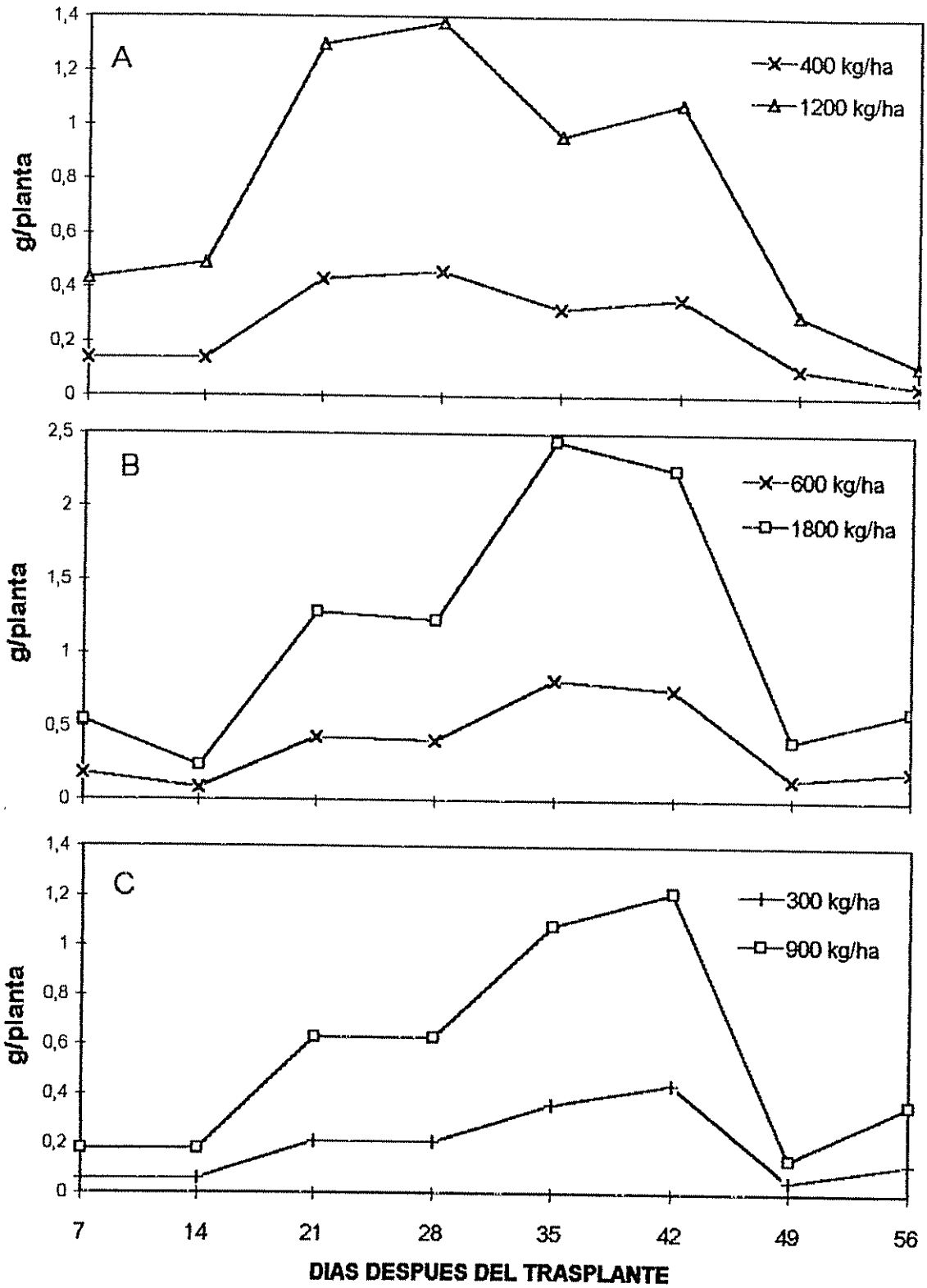
ELEMENTO	CONCENTRACION
Nitrógeno	0,35 (%)
Fósforo	4,2 (mg/l)
Potasio	0,25 (meq)
Calcio	6,16 (meq)
Magnesio	1,81 (meq)
Cobre	19,4 (mg/l)
Zinc	5,6 (mg/l)
Manganeso	55,0 (mg/l)
Profundidad	30,0 (cm)
pH (en agua)	5,2

Anexo 2. Volumen diario de agua de irrigación para plantas de tomate cv. Hayslip, en el invernadero.

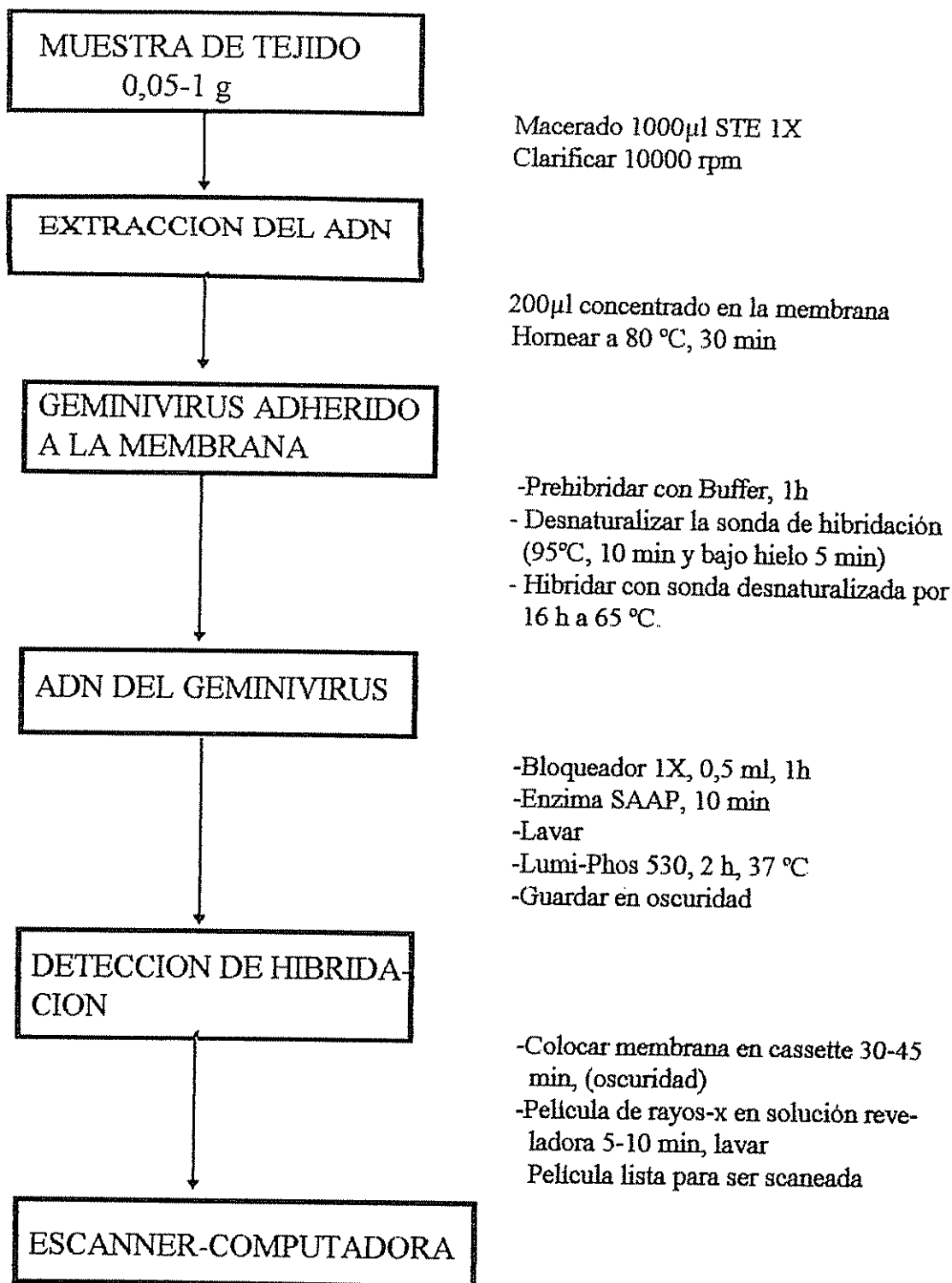
DIAS	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO	AGOSTO
1		2	2,5	2,5	2,5
5		2	2,5	2,5	2,5
9		2	2,5	2,5	2,5
13		2	2,5	2,5	2,5
17	1	2	2,5	2,5	2,5
21	1	2	2,5	2,5	2,5
25	1	2	2,5	2,5	2,5
29	1	2	2,5	2,5	2,5
31	1	2	2,5	2,5	2,5

Anexo 3. Distribución de las dosis de N-P-K (g/planta) a través del tiempo, estimando una densidad de 33,000 plantas/ha.

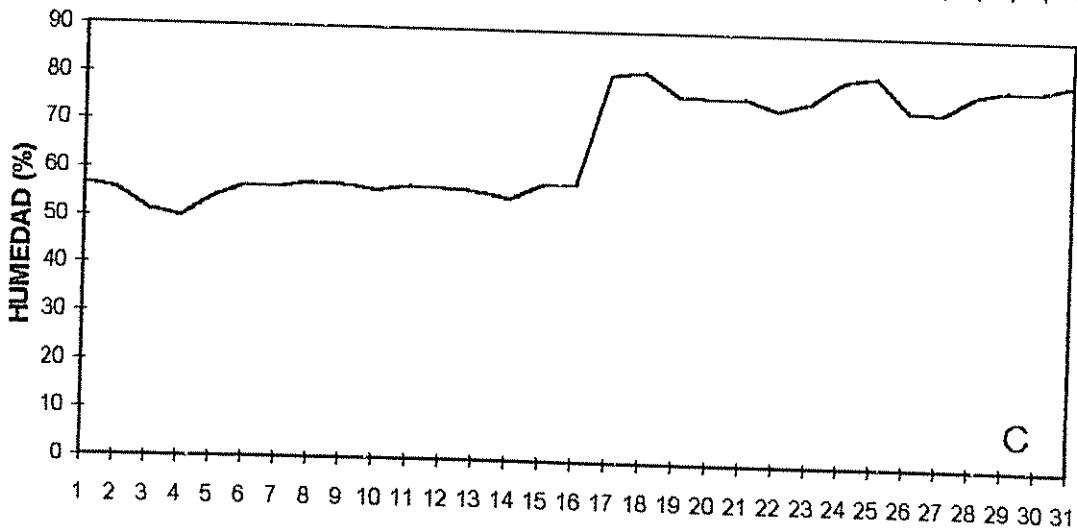
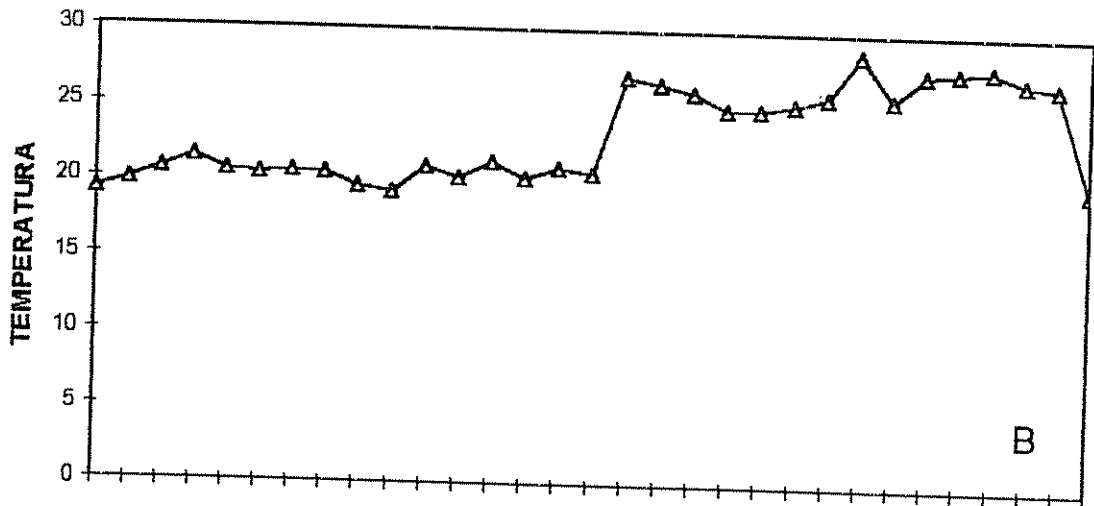
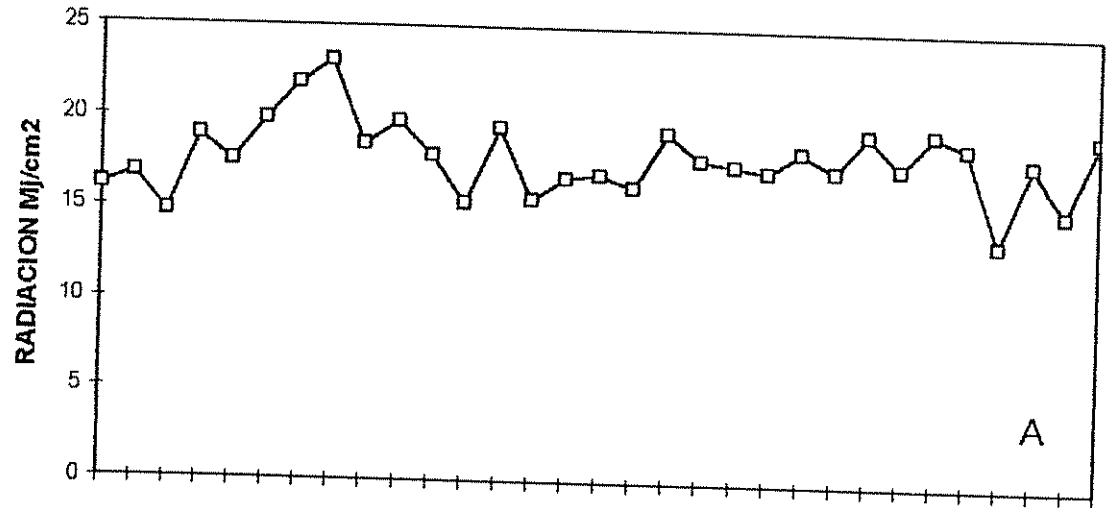
DIAS DESPUES DEL TRASPLANTE	NITROGENO (N)		FOSFORO (P ₂ O ₅)		POTASIO (K ₂ O)	
	400	1200	600	1800	300	900
35	0,14	0,43	0,18	0,54	0,06	0,18
45	0,14	0,43	0,08	0,23	0,06	0,18
52	0,43	1,30	0,43	1,28	0,21	0,63
60	0,46	1,38	0,41	1,23	0,21	0,63
67	0,32	0,96	0,82	2,45	0,36	1,08
75	0,36	1,08	0,75	2,25	0,44	1,31
82	0,10	0,30	0,14	0,41	0,05	0,14
90	0,04	0,12	0,20	0,61	0,12	0,36



Anexo 4. Curva de absorción de nutrimentos en tomate a través del tiempo para nitrógeno (A), fósforo (B) y potasio (C).



Anexo 5. Esquema de procedimiento de detección de ADN viral, del mosaico amarillo del tomate mediante el método de hibridación de ácidos nucleicos con sondas frías.



Anexo 6. Promedio diario de datos climatológicos registrados durante el experimento, fuera (A) y dentro del invernadero (B,C).

Anexo 7. Altura promedio (cm) de plantas de tomate cv. Hayslip, de tratamientos inoculados deliberadamente (INOC) y accidentalmente (ACC) en el invernadero.

TRATAMIENTOS (N-P-K)	DIAS DESPUES DEL TRASPLANTE								
	1	7	14	21	28	35	42	49	63
INOCULADOS DELIBERADAMENTE									
T1 (400-600-300)	25	45,56	64,06	93,81	110,31	122,63	134,88	146,63	159,10
T2 (400-600-900)	25	49,44	65,63	95,25	110,13	121,06	134,00	148,81	150,30
T3 (400-1800-300)	25	49,44	71,44	106,25	116,56	125,06	137,63	147,88	164,50
T4 (400-1800-900)	25	46,38	65,13	92,13	108,19	117,13	129,19	144,81	153,80
T5 (1200-600-300)	25	47,38	63,13	88,56	103,69	114,94	120,25	134,75	144,90
T6 (1200-600-900)	25	45,31	66,88	101,13	118,38	126,88	139,63	152,38	158,80
T7 (1200-1800-300)	25	47,31	64,38	92,81	108,19	120,38	135,81	147,88	160,80
T8 (1200-1800-900)	25	45,06	62,75	93,13	108,25	120,00	132,06	148,31	159,80
INOCULADOS ACCIDENTALMENTE									
T1 (400-600-300)	25	45,56	66,31	98,69	114,75	125,75	140,75	153,38	170,13
T2 (400-600-900)	25	47,13	67,44	95,63	108,31	119,44	133,56	155,19	159,31
T3 (400-1800-300)	25	41,44	63,69	99,75	115,75	127,25	143,38	154,19	166,31
T4 (400-1800-900)	25	44,50	67,00	101,94	118,06	132,69	145,56	162,75	173,13
T5 (1200-600-300)	25	45,95	70,00	103,50	119,69	129,88	142,56	165,13	179,06
T6 (1200-600-900)	25	44,06	65,25	96,38	107,06	119,75	132,00	143,56	155,44
T7 (1200-1800-300)	25	42,88	67,63	101,69	120,50	131,13	147,44	162,19	175,69
T8 (1200-1800-900)	25	44,50	67,00	104,13	121,81	131,19	147,56	162,88	173,38

Anexo 8. Promedio del índice de severidad, según tratamientos inoculados deliberadamente (INOC) y accidentalmente (ACC).

TRATAMIENTOS (N-P-K)	DIAS DESPUES DEL TRASPLANTE								
	1	7	14	21	28	35	42	49	63
INOCULADOS DELIBERADAMENTE									
T1 (400-600-300)	0	0,12	0,13	1,13	1,94	2,06	2,38	2,56	2,60
T2 (400-600-900)	0	0,44	0,63	1,63	1,94	2,06	2,13	2,56	2,65
T3 (400-1800-300)	0	0,10	0,19	0,88	1,31	1,50	2,06	2,50	2,60
T4 (400-1800-900)	0	0,10	0,13	1,25	2,06	2,19	2,25	2,56	2,59
T5 (1200-600-300)	0	0,15	0,25	1,19	2,19	2,31	2,63	2,69	2,75
T6 (1200-600-900)	0	0,14	0,25	0,88	1,44	1,56	1,88	1,94	2,00
T7 (1200-1800-300)	0	0,20	0,31	1,56	2,13	2,31	2,31	2,38	2,50
T8 (1200-1800-900)	0	0,35	0,56	1,56	2,00	2,13	2,13	2,06	2,30
INOCULADOS ACCIDENTALMENTE									
T1 (400-600-300)	0,00	0,00	0,06	1,06	1,25	1,63	1,69	2,06	2,13
T2 (400-600-900)	0,00	0,05	0,94	0,13	1,75	1,81	2,00	2,13	2,15
T3 (400-1800-300)	0,00	0,00	0,00	0,69	0,88	1,31	1,38	1,63	1,75
T4 (400-1800-900)	0,00	0,09	0,13	0,88	0,94	1,56	1,56	1,69	1,78
T5 (1200-600-300)	0,00	0,00	0,00	0,75	0,94	1,19	1,56	1,56	1,88
T6 (1200-600-900)	0,00	0,00	0,06	1,06	1,25	1,75	2,06	2,19	2,25
T7 (1200-1800-300)	0,00	0,00	0,00	0,69	0,94	1,50	1,56	1,69	1,75
T8 (1200-1800-900)	0,00	0,00	0,06	0,0,63	0,75	0,88	1,00	1,13	1,45

Anexo 9. Concentración foliar de nutrimentos (%) en los tratamientos inoculados deliberadamente, a través del tiempo.

TRATAMIENTOS (N-P-K)	DIAS DESPUES DEL TRASPLANTE																			
	NITROGENO				FOSFORO				POTASIO				CALCIO				MAGNESIO			
	3	18	33	48	3	18	33	48	3	18	33	48	3	18	33	48	3	18	33	48
T1 (400-600-300)	4,32	4,19	4,02	3,49	0,54	0,33	0,19	0,17	5	2,54	2,86	2,84	1,65	1,56	0,98	1,34	0,44	0,40	0,22	0,28
T2 (400-600-900)	4,32	3,62	4,04	3,90	0,54	0,29	0,19	0,18	5	2,76	3,02	3,28	1,65	2,00	1,2	1,26	0,44	0,40	0,26	0,28
T3 (400-1800-300)	4,32	4,27	3,75	3,95	0,54	0,35	0,20	0,26	5	2,50	2,72	2,74	1,65	1,84	1,88	1,42	0,44	0,40	0,22	0,34
T4 (400-1800-900)	4,32	3,96	4,38	4,26	0,54	0,33	0,24	0,30	5	2,82	2,76	3,10	1,65	1,66	0,90	1,34	0,44	0,38	0,20	0,30
T5 (1200-600-300)	4,32	3,88	3,59	4,11	0,54	0,30	0,15	0,21	5	2,82	2,62	3,06	1,65	1,78	0,88	1,30	0,44	0,38	0,20	0,30
T6 (1200-600-900)	4,32	4,36	4,03	3,77	0,54	0,32	0,16	0,18	5	2,36	3,16	3,26	1,65	1,68	1,14	1,34	0,44	0,40	0,24	0,30
T7 (1200-1800-300)	4,32	4,37	4,27	4,74	0,54	0,34	0,20	0,30	5	2,72	2,80	2,64	1,65	1,60	1,08	1,38	0,44	0,38	0,24	0,32
T8 (1200-1800-900)	4,32	3,92	4,17	4,48	0,54	0,31	0,21	0,27	5	2,80	2,84	3,32	1,65	1,74	0,88	1,38	0,44	0,36	0,20	0,30

Anexo 10. Concentración foliar de nutrimentos (ppm) en los tratamientos inoculados deliberadamente, a través del tiempo.

TRATAMIENTOS (N-P-K)	DIAS DESPUES DEL TRASPLANTE											
	ZINC				COBRE				MANGANESO			
	3	18	33	48	3	18	33	48	3	18	33	48
T1 (400-600-300)	64	26	32	32	38	38	32	20	381	408	334	280
T2 (400-600-900)	64	24	36	36	32	32	34	20	381	438	346	288
T3 (400-1800-300)	64	22	42	42	38	38	34	20	381	456	296	256
T4 (400-1800-900)	64	24	32	32	36	36	30	22	381	400	314	292
T5 (1200-600-300)	64	28	36	36	38	38	26	22	381	428	302	306
T6 (1200-600-900)	64	18	36	36	42	42	30	22	381	354	366	302
T7 (1200-1800-300)	64	26	30	30	38	38	26	20	381	368	322	274
T8 (1200-1800-900)	64	26	30	30	36	36	24	22	381	376	322	320

Anexo 11. Tabla para la interpretación de valores nutricionales de la planta de tomate a mediados de la floración, según Benton *et al.* (1991).

ELEMENTOS	BAJO	SUFICIENTE	ALTO
N (%)	2,50-3,99	4,0-6,0	> 6,0
P (%)	0,20-0,24	0,25-0,75	> 0,75
K (%)	1,05-2,89	2,9-5,0	> 5,0
Ca (%)	0,80-0,99	1,0-3,0	> 3,0
Mg (%)	0,25-0,39	0,4-0,6	> 0,6
S (%)	0,25-0,39	0,4-1,2	> 1,2
B (ppm)	20-24	25-60	> 60
Cu (ppm)	3-4	5-20	> 20
Fe (ppm)	30-39	40-200	> 200
Mn (ppm)	30-39	40-250	> 250
Zn (ppm)	18-19	20-50	> 50

Anexo 12. Concentración relativa de ADN viral a través del tiempo en todos los tratamientos inoculados deliberadamente y dos accidentalmente.

TRATAMIENTOS (N-P-K)	DIAS DESPUES DEL TRASPLANTE			
	15	30	45	60
T1 (400-600-300)	166,10	154,0	156,7	211,5
T2 (400-600-900)	153,27	121,1	119,5	248,9
T3 (400-1800-300)	158,40	116,8	116,8	233,6
T4 (400-1800-900)	174,43	111,2	111,1	213,3
T5 (1200-600-300)	168,80	107,4	107,8	194,8
T6 (1200-600-900)	141,93	101,9	101,0	235,8
T7 (1200-1800-300)	213,27	97,5	96,1	228,3
T8 (1200-1800-900)	215,43	200,9	199,3	252,6
T1 (400-600-300) *	157,00	86,0	85,7	195,6
T8 (1200-1800-900) *	128,67	83,2	83,5	205,8

* Inoculados accidentalmente