

CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA

PROGRAMA DE ENSEÑANZA
ÁREA DE POSGRADO

// EFECTO DE PODAS Y FERTILIZACIÓN FOLIAR SOBRE LA SEVERIDAD
DEL MOSAICO AMARILLO DEL TOMATE

Tesis sometida a la consideración del Comité
Técnico Académico del 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

✓
Pilar Enrique Suazo Hernández

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

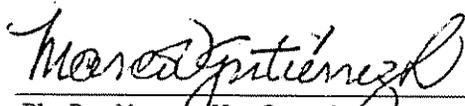
FIRMANTES:



Ph.D. Luko Hilje
Profesor Consejero



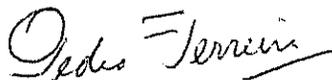
Ph.D. Pilar Ramírez
Miembro Comité Asesor



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



Pilar Enrique Suazo Hernández
Candidato

DEDICATORIA

A mi padre, Alvaro Enrique Suazo Fiallos , por su apoyo brindado , quien es un verdadero ejemplo para mi formación .

A mi querida madre, Iris Ofelia Fernández, por todo su apoyo y amor brindados.

A mi querida esposa Glenda Rubio por sus esfuerzos y comprensión.

A mi princesita Andrea Suazo Rubio.

A mis queridísimas hermanas.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mis más sinceros agradecimientos a todas aquellas personas que en una u otra forma colaboraron en la elaboración de este trabajo.

* A MI DIOS TODO PODEROSO

* Al Dr. Luko Hilje, su constante estímulo y apoyo, así como sus valiosos consejos y asistencia científica.

* A los doctores Pilar Ramírez y Marco Vinicio Gutiérrez, miembros del Comité Asesor, su colaboración y disposición para la revisión y discusión de los borradores y el documento final.

* Al M.Sc Mario Saborío y la M.Sc. Floria Bertsch, sus valiosas recomendaciones y apoyo técnico.

* Al Dr. Pedro Oñoro, así como al asistente de estadística Johnny Pérez, su apoyo y dedicación en el análisis de los datos.

* A todos los profesores que brindaron sus conocimientos para mi formación profesional.

* A mis compañeros de clase, su compañerismo y el apoyo en los momentos difíciles.

* Al personal técnico del Laboratorio del Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular (CIBCM), Universidad de Costa Rica, y en especial a Alexis, por su valiosa colaboración en el análisis de ADN viral.

* Al M.Sc. Douglas Cubillo, Guido Sanabria y Manuel Zamora, su compañerismo y gran ayuda durante la fase experimental.

* A mis compañeros del Área de Fitoprotección, y principalmente a Mario Padilla, y Carlos Ruiz Silvera y esposa.

* A la familia Morales Rojas, que con su sincera amistad hizo que nos sintiéramos como en nuestro país.

* Al M.Sc. Orlando Arboleda, la revisión del manuscrito de la tesis.

BIOGRAFIA

El autor nació el 24 de marzo de 1968 en La Paz, Departamento de La Paz, Honduras.

Realizó sus estudios primarios en la Escuela Parroquial Nuestra Señora de la Merced, en La Paz, durante 1974-1979. Realizó sus estudios de secundaria en el Instituto San Francisco, Comayagüela, M.D.C., donde en 1984 obtuvo el título de bachiller en Ciencias y Letras. En 1990 se graduó como Ingeniero Agrónomo en el Centro Universitario Regional del Litoral Atlántico (CURLA), perteneciente a la Universidad Nacional Autónoma de Honduras (UNAH).

Desde 1990 laboró en la hacienda ganadera "Ruatán", en La Paz, hasta que en enero de 1994 ingresó al Programa de Postgrado del CATIE, donde en diciembre de 1995 obtuvo el grado de *Magister Scientiae* en Agricultura Tropical Sostenible con énfasis en Fitoprotección.

INDICE

	Página
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
BIOGRAFIA	v
INDICE	vi
RESUMEN	ix
SUMMARY	x
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE CUADROS	xii
LISTA DE ANEXOS	xiii
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION DE LITERATURA	3
2.1 Aspectos generales del cultivo del tomate.	3
2.2 Podas y fertilización del cultivo.	4
2.2.1 Poda	5
2.2.2 Fertilización	6
2.3 Principales plagas del tomate	9
2.4 La mosca blanca <i>Bemisia tabaci</i>	9
2.4.1 Clasificación biología y ecología	9
2.4.2 Biotipos	11
2.4.3 Hospedantes	12

2.4.4 Daño en el tomate	13
2.5 Los geminivirus	14
2.6 Relación virus-vector-planta	15
2.7 Efecto de los virus en la fisiología de las plantas	16
2.8 Opciones de manejo del complejo <i>B. tabaci</i> -geminivirus	21
2.8.1 Control químico	22
2.8.2 Cultivares resistentes	23
2.8.3 Combate biológico	24
2.8.4 Prácticas agrícolas	25
2.9 Hibridación de ácidos nucleicos	27
III. OBJETIVOS	29
3.1 Objetivo general	29
3.2 Objetivos específicos	29
IV. HIPOTESIS	29
V. MATERIALES Y METODOS	30
5.1 Ubicación del experimento	30
5.2 Manejo del cultivo	30
5.3 Tratamientos y diseño experimental	32
5.4 Inoculación	33
5.5 Variables de respuesta y análisis estadístico	33
a) Índice de severidad	33
b) Altura	34
c) Concentración de nutrimentos	34
d) Biomasa	35

e) Concentración de geminivirus	36
f) Rendimiento	41
g) Análisis estadístico de los datos	41
VI. RESULTADOS	43
VII. DISCUSION	54
VIII. CONCLUSIONES	64
IX. RECOMENDACIONES	64
X. BLIBLIOGRAFIA	65
XI ANEXOS	79

SUAZO, P.E. 1995. Efecto de podas y fertilización foliar sobre la severidad del mosaicoamarillo del tomate. Tesis Mag. Sci. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 89 p.

Palabras claves: poda, fertilización, tomate, *Bemisia tabaci*, geminivirus.

RESUMEN

En el invernadero, se evaluó el efecto de podas combinadas con fertilización foliar, para reducir la severidad del mosaico amarillo del tomate. Se hizo en tomate de mesa, var. Hayslip, de crecimiento determinado.

El almácigo se cubrió con la malla Agronet-S por 30 días. En el invernadero se estableció un diseño en bloques completos al azar, con cinco repeticiones. En todos, salvo el testigo absoluto, las plantas se inocularon con geminivirus a los 5 días después del trasplante (ddt). Los tratamientos consistieron en la poda, combinada con fertilización foliar, a los 10, 20, 30, 40 y 50 ddt. Hubo dos testigos, uno absoluto (sin inocular) y otro relativo (inoculado), ambos sin poda y con fertilización foliar. Se fertilizó con Fetrilón Combi, a 1 kg/ha. Se registraron la severidad de la enfermedad, altura y biomasa de la planta, concentración de nutrimentos y ADN viral en el follaje, y rendimientos.

Todos los tratamientos redujeron la severidad de la enfermedad, y especialmente cuando la poda y fertilización se efectuaron a los 20 ddt. Sin embargo, los rendimientos fueron bajos, debido al ataque severo de *Pseudomonas solanacearum*.

SUAZO, P.E. 1995. Effect of pruning and foliar fertilization on the severity of the tomato yellow mosaic virus. Master of Science Thesis. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 84 p.

Key words: pruning, fertilization, tomato, *Bemisia tabaci*, geminivirus.

SUMMARY

The effect of pruning combined with foliar fertilization in reducing the severity of the tomato yellow mosaic disease, 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 five repetitions was used. In all of them but the absolute control, plants were inoculated with geminivirus 5 days after transplanting (dat). Treatments consisted of pruning plus a foliar fertilization at 10, 20, 30, 40 and 50 dat. Control treatments included an absolute (without inoculation) and a relative one (inoculated), both without pruning and with foliar fertilization. Fetrilon Combi fertilizer (1 kg/ha) was used. Disease severity, plant's height and biomass, nutrient and leaf viral DNA concentration, and yield were recorded.

The disease severity was reduced in all treatments, and especially when pruning and fertilization were applied 20 dat. However, yields were low, due to a severe attack by *Pseudomonas solanacearum*.

LISTA DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Esquema del procedimiento de detección del ToYMV, usando sondas radioactivas, mediante hibridación de ácidos nucleicos	42
2	Promedio mensual de radiación solar (A), temperatura (B) y humedad relativa (C) en el invernadero durante el experimento .	44
3	promedios del indice de severidad (A), altura de planta (B) y concentración del ADN viral (C), según los tratamientos.	45
4	Promedios de peso seco por estructura, según los tratamientos.	48
5	Promedios de peso fresco de los frutos, por clases,según los tratamientos.	48
6	Promedios del numero total de frutos por clases, según los tratamientos.	48
7	Concentración promedio de nitrógeno (N), potasio (K), fósforo (P), y magnesio (Mg), en el follaje del tomate. Datos consolidados de todos los tratamientos, excepto TTA.	51
8	Concentración promedio de calcio (Ca) en el follaje del tomate, según los tratamientos.	51
9	Concentración promedio de cobre (A), zinc (B) y manganeso (C) en el follaje del tomate. Datos consolidados de todos los tratamientos, excepto TTR.	53

LISTA DE ANEXOS

Anexo		pág.
1.	Altura promedio (m) de plantas de tomate cv. Hayslip, en el invernadero.	80
2.	Volumen de agua de irrigación (l/planta) para plantas de tomate cv. Hayslip, en el invernadero.	80
3.	Promedio del índice de severidad, según los tratamientos.	81
4.	Concentración relativa de ADN viral, según los tratamientos.	81
5.	Concentración de nutrimentos que no mostraron diferencias entre tratamientos	82
6.	Concentración de calcio, según los tratamientos.	82
7.	Tabla para la interpretación de valores nutricionales de la planta de tomate a mediados de la floración, según los tratamientos.	83
8.	Condiciones ambientales durante el experimento	84

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1.	Analisis de varianza y contrastes ortogonales globales (PR>t) para altura de la planta y la severidad del mosaico amarillo del tomate.	46
2.	Analisis de varianza y contrastes ortogonales globales (PR>t) para el número defrutos, rendimiento total y biomasa total.	46
3.	Analisis de varianza y contrastes ortogonales globales (PR>t) para el peso seco de las hojas, tallo, raíces.	49
4.	Analisis de varianza y contrastes ortogonales globales (PR>t) para el peso de frutos de primera (1a.), segunda (2a.) y tercera (3a.) clases	49
5.	Analisis de varianza y contrastes ortogonales globales (PR>t) para el nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio(Ca), magnesio (Mg), cobre (Cu), zinc (Zn) y manganeso (Mn)	52

I. INTRODUCCION

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es uno de los cultivos hortícolas más importantes en América Central, por su alto valor nutritivo y por las cualidades organolépticas de sus frutos, que los hacen muy apetecibles. Su producción y comercialización son una fuente importante de divisas y empleo. Se utiliza en la agroindustria, para la fabricación de pastas, salsas, jugos, concentrados y purés, así como para consumo fresco (CATIE 1990, IICA 1991).

América Central es una zona favorable para el cultivo. Se siembran aproximadamente 21000 ha anualmente, y su producción genera más de \$ 50 millones (CATIE 1990, IICA 1991). En el último decenio ha habido fuertes reducciones en los rendimientos (12,75 t/ha), en comparación con Norteamérica y Europa (25 t/ha) (CATIE 1990). Esto se debe, junto a los factores climáticos y características de manejo del cultivo, al ataque de insectos plaga que anteriormente eran consideradas secundarias, pero que actualmente son primarias, como la mosca blanca, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) (Hilje y Arboleda 1993).

La importancia de *B. tabaci* radica en su alta capacidad reproductiva y gran eficiencia en la transmisión de geminivirus (Brown 1993), así como en su amplio ámbito de hospedantes, tanto cultivados como silvestres. En Mesoamérica y áreas vecinas ataca 70 especies de plantas, distribuidas en 39 familias (Hilje 1995).

Aunque *B. tabaci* puede causar daño directo en tomate (lesiones al tejido foliar y succión de savia), su mayor daño es indirecto, por la transmisión de geminivirus. Estos provocan alteraciones en el metabolismo de la planta, reducen su contenido de proteínas, azúcar y almidón, y la tasa neta de fotosíntesis, e incrementan la respiración celular, lo que disminuye el crecimiento y el rendimiento (Leal y Lastra 1984).

El combate químico no ha sido eficaz para evitar la infestación por geminivirus, por lo que es necesario buscar opciones preventivas (Hilje 1993). El período crítico o de mayor susceptibilidad del tomate a geminivirus es de aproximadamente 60 días desde la siembra (Acuña 1993, Franke *et al.* 1983). Las medidas de combate deben concentrarse ahí (Hilje 1993). Para los primeros 30 días, se han obtenido resultados satisfactorios mediante almácigos cubiertos con mallas finas (Cubillo *et al.* 1994, Quirós *et al.* 1994, Rivas *et al.* 1994). Sin embargo, al llevar las plántulas al campo, quedan expuestas al vector y los virus.

Aunque en América Central no se han investigado opciones para reducir la severidad del mosaico amarillo del tomate en plantas infectadas, varios agricultores en Grecia, Costa Rica, lograron recuperar plantas enfermas mediante podas severas complementadas con fertilización foliar (Luko Hilje 1994, CATIE, com. pers.).

La nutrición mineral afecta la resistencia o susceptibilidad de las plantas a patógenos (Huber 1994). En plantas de tomate infectadas con virus, la nutrición mejora su desarrollo vegetativo, la eficiencia en el uso de nutrimentos y atenúa la severidad de la enfermedad (Kaplan y Bergman 1985). La severidad es influenciada por el tipo de cultivo, raza del virus, tiempo y lugar de inoculación, parte de la planta a muestrear, suministro de nutrimentos esenciales y el ambiente físico (Kaplan y Bergman 1985).

Esta investigación pretendió determinar el efecto de la poda y fertilización foliar sobre la severidad del daño causado por geminivirus asociados con el mosaico amarillo del tomate.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Aspectos generales del cultivo del tomate

El tomate, *Lycopersicon esculentum* Mill. (Solanaceae), es una planta perenne, pero comercialmente se cultiva como anual (Anderlini 1970). Morfológicamente, posee un sistema radical constituido por una raíz principal y varias laterales; el tallo es rastrero por naturaleza; las hojas son alternas y protegen los frutos de la radiación solar (Gallegos y Dutari 1980).

Existen dos hábitos de crecimiento: determinado e indeterminado. En el primero las plantas son de tipo arbustivo, de porte bajo y compacto; es muy utilizado en la agroindustria, ya que sus etapas fenológicas están bien definidas y la fructificación se concentra en períodos relativamente cortos. En las plantas de crecimiento indeterminado la floración, fructificación y cosecha se prolongan por períodos más extensos (CATIE 1990).

Es uno de los productos hortícolas que más se explotan en América Central y áreas aledañas. La superficie dedicada a su siembra, por país (IICA 1991), es: 80000 ha (México), 5046 ha (Guatemala), 85 ha (Belice), 6000 ha (Honduras), 1820 ha (El Salvador), 538 ha (Costa Rica), 669 ha (Panamá) y 6225 ha (República Dominicana); no aparecen datos para Nicaragua. El cultivo promueve una considerable actividad económica, en la generación de fuentes de trabajo, divisas y mercadeo (CATIE 1990).

La producción es variable, pues depende del tipo de suelo, temperatura y humedad del suelo. En América Central se obtienen rendimientos de 10-50 t/ha (IICA 1991). Predominan los pequeños productores, con fincas de 0,5-3 ha. Tanto en pequeñas como grandes explotaciones, la producción implica un elevado uso de insumos, principalmente fertilizantes y plaguicidas (CATIE 1990).

Los sistemas de siembra son: directo y por trasplante. El directo no somete a la planta al estrés del trasplante, pero requiere mayor cantidad de semilla por área; además, la planta se expone a problemas de plagas desde el inicio de su desarrollo, lo que aumenta los costos de producción (Gallegos y Dutari 1980). Este sistema se utiliza en cultivares para consumo fresco (IICA 1991). Exige buena preparación del suelo, control de malezas y manejo del riego (Gallegos y Dutari 1980).

La siembra por trasplante, al establecerse el semillero aprovecha bien las condiciones climáticas, evita el ataque de insectos, ya que las plántulas se pueden sembrar bajo túneles cubiertos con malla fina (Cubillo *et al.* 1994, Quirós *et al.* 1994, Rivas *et al.* 1994), y permite seleccionar las plántulas que se trasplantan. Todo esto reduce los costos de producción durante los primeros 30 días del cultivo. Para establecer semilleros se recomienda un suelo con buenas características físicas y químicas, para el buen desarrollo de las plántulas (Gallegos y Dutari 1980). Los semilleros se utilizan en cultivares industriales, y en menor grado para variedades de consumo fresco (IICA 1991).

En Costa Rica predomina la siembra directa (Hilje 1993). La producción se concentra en pequeños productores, con áreas promedio de 3 ha y rendimientos de 21-38 t/ha; el consumo *per capita* es de 0,349 kg/día (IICA 1991). En los demás países de América Central prevalece la siembra por trasplante, con predominio de pequeños agricultores (0,5-3 ha), y el consumo *per capita* es de 11 kg/año; también se produce tomate industrial, con áreas de 600-5000 ha y empleo de alta tecnología, para la elaboración de pastas, purés, concentrados y jugos (IICA 1991)

2.2 Poda y fertilización del cultivo

Para el cultivo del tomate existen ciertas prácticas agrícolas, como la poda y la fertilización, cuyo objetivo es incrementar la cantidad y calidad de los frutos.

2.2.1 Poda

Mediante ella se eliminan pequeños brotes laterales (vástagos), que si se desarrollaran darían origen a brotes secundarios y terciarios de la planta (Lereña 1975). Se pretende mejorar la relación entre el sistema foliar y los órganos reproductivos, que son antagónicas (López y Chang 1974), lo cual afecta el volumen y calidad de la producción (Borbón 1983). Se evita que los nutrimentos se consuman en la formación continua de brotes, y en frutos que no alcanzan un desarrollo óptimo. Asimismo, elimina tejido enfermo (Ramírez 1977).

La fecha y tamaño de la planta cuando se hace la poda dependen de la fertilización, época de siembra y variedad. Se realiza cuando las plantas miden 15-25 cm (Mortenson y Bullard 1975), al aparecer la primera inflorescencia en la mayoría de las plantas (Anderline 1970). Los brotes de las yemas axilares se cortan cuando el tallo mide 10 cm (González 1970). No se debe hacer cuando la planta entra en producción, ya que bajan los rendimientos; se puede podar a intervalos de 15-30 días antes de la formación de frutos (Tamaro 1981).

En el tomate existen varios métodos de poda (González 1970, Tamaro 1981, Vallejo *et al.* 1975). La poda de **una rama o guía** consiste en eliminar todos los brotes derivados de las yemas axilares, dejando solo la yema terminal. En la de **dos ramas o guías** se deja desarrollar la planta hasta que tenga de tres a cuatro hojas completamente desarrolladas, se despunta el tallo principal por encima de las hojas inferiores y se deja crecer libremente. Con la de **tres ramas o guías** se pretende dejar la yema terminal y las dos inmediatas por debajo de la primera inflorescencia. En la de **cuatro ramas o guías** se deja crecer la planta hasta que tenga tres hojas; se cuidan dos brotes, los cuales se podan cuando midan 3-5 cm, para que se bifurquen y formen cuatro ramas, que se dejan crecer libremente.

2.2.2 Fertilización

Para la producción óptima de tomate la planta necesita un adecuado balance de nutrimentos, los cuales se deben aplicar en cantidades e intervalos adecuados y oportunos (Barceló *et al.* 1983). Para ello se consideran los requerimientos nutricionales del cultivo, según la curva de absorción de nutrimentos, y la cantidad de éstos presente en el suelo (Bertsch y Guzmán 1981, CATIE 1990).

El abonamiento es un problema local y cada productor debe determinar su propio régimen de fertilización, según las etapas fisiológicas del cultivo (Cásseres 1981). Además, se deben considerar las características del suelo, condiciones climáticas, prácticas del cultivo, tipo de fertilizante usado y el método de aplicación, pues influyen en la absorción de los elementos por la planta (Saborío 1987).

En Costa Rica se recomiendan cuatro aplicaciones de fertilizante al suelo, por hectárea (MAG 1983). Para el tomate por siembra directa se hace de la siguiente manera: 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); a los 110 dds, con 70 kg/ha (N). Así se pueden producir 30-40 t/ha (MAG 1983). Por trasplante, a los 15 días después del trasplante (ddt) con 181-272 kg de fórmula 18-6-12; a los 30 ddt, con 90-136 kg de fórmula 18-6-12; a los 45 y 60 ddt, con dos aplicaciones de 90-136 kg de urea (46% de N), respectivamente. Además, se refuerza la planta con tres aplicaciones de microelementos al follaje, a los 30, 50 y 70 dds, en dosis de 1 kg/ha.

Estas recomendaciones no se ajustan a la curva de absorción de nutrimentos durante el ciclo del cultivo, la cual muestra la cantidad de elementos

que absorbe la planta durante dicho ciclo. En el invernadero, se demostró que conforme crece la planta de tomate, aumenta la extracción de nutrimentos (Ward 1967). Existe correlación entre las curvas de crecimiento y de absorción de nutrimentos (Bertsch y Guzmán 1981). La curva de absorción presenta una fase de rápida absorción, que es la fase crítica, pues de no estar los nutrimentos en el sustrato se reducirán el desarrollo de la planta y el rendimiento; la segunda fase, de carácter lineal, es más lenta (Barceló *et al.* 1983, Wilcox y Langston 1960).

En promedio, 400, 600 y 300 kg/ha de nitrógeno, fósforo y potasio, respectivamente, y 0,8 de micronutrientes, aplicados fraccionadamente, son adecuados para obtener una producción de 20 t/ha, en promedio, dependiendo de las condiciones climáticas y edáficas (CATIE 1990, IICA 1991).

Las funciones atribuidas a los elementos minerales esenciales son diversas. El nitrógeno forma parte de la estructura de las proteínas. Se encuentra en las purinas, pirimidinas, porfirinas y coenzimas; las purinas y pirimidinas son parte de los ácidos nucleicos, el anillo de la porfirina está en la clorofila y las coenzimas hacen funcionar a muchas enzimas (Salisbury y Ross 1991). El fósforo está en los ácidos nucleicos, fosfolípidos, las coenzimas NAD y NADP y en el ATP. La NAD y NADP intervienen en reacciones de oxidación-reducción en que hay transferencia de hidrógeno, y el ATP como compuesto transportador de energía (Windsor y Adams 1987). El potasio es activador de las enzimas que intervienen en la síntesis de uniones peptídicas (Salisbury y Ross 1991); su deficiencia influye en la respiración, fotosíntesis, aparición de clorofila y contenido de agua del follaje (Salisbury y Ross 1991, Windsor y Adams 1987).

El tomate responde bien a las aplicaciones de los macroelementos, expresado en su aumento en el rendimiento (Tamaro 1981). El nitrógeno favorece el desarrollo vegetativo, el potasio es necesario en la floración y para obtener frutos de buen peso y calidad, y el fósforo influye especialmente en la madurez y

precocidad de los frutos. Durante la formación de frutos hay mayor demanda de estos elementos, y especialmente de fósforo. Antes de la floración, el nitrógeno y fósforo están mayormente en las hojas, y luego pasan a las flores y frutos. El fósforo se absorbe mayormente durante el desarrollo vegetativo y se transloca hacia los puntos de crecimiento meristemático, favoreciendo de esta manera el desarrollo del sistema radicular al inicio del ciclo del cultivo (Demolon 1972, Tamaro 1981).

La acidez del fruto es una propiedad importante para el proceso de elaboración industrial, pues determina directamente la calidad final del concentrado de tomate. El potasio aumenta notoriamente la acidez titulable de frutos (Davies 1964). Los sólidos solubles están relacionados con el riego y la fertilización del cultivo, pues las aplicaciones elevadas de N, P y K, e irrigación están asociadas con porcentajes bajos de sólidos solubles. Los porcentajes de sólidos solubles son menores cuando aumenta el número de frutos (Davies 1967).

Los microelementos funcionan en cantidades pequeñas. No obstante, su déficit en la planta la enferma (Agrios 1988). Contribuyen en la defensa de las plantas (Salisbury y Ross 1991). El hierro es esencial para la síntesis de la clorofila, así como componente de varias flavoproteínas y proteínas ferroporfirínicas, como los citocromos, peroxidasa y catalasa. El boro está relacionado con la membrana celular, donde forma un complejo con la molécula de azúcar y facilita su transporte por la membrana. El manganeso es clave para la respiración y el metabolismo del nitrógeno, actuando como activador enzimático. El cobre forma parte de las fenolasas, lactasas y de la oxidasa del ácido ascórbico; además, los cloroplastos poseen plastocianina, una proteína que contiene cobre, que actúa en la fotosíntesis. El zinc interviene en la biosíntesis del ácido indolil-3-acético (IAA), que es una auxina importante como reguladora del crecimiento (Salisbury y Ross 1991, Windsor y Adams 1987).

Teóricamente, es posible alimentar una planta adulta exclusivamente por vía foliar (Bertsch 1995). Sin embargo, una planta debe alimentarse bien desde que nace, y no solo a partir del momento que tenga suficiente biomasa foliar, por lo que esta práctica solo puede ser un complemento nutricional a la fertilización del suelo (Bertsch 1995).

2.3 Principales plagas del tomate

Las plagas son una limitante importante para la producción de tomate. En Costa Rica, por su frecuencia en el cultivo y la magnitud del daño que provocan, los insectos plaga son, en orden de importancia: la mosca blanca, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae), el gusano alfiler, *Keiferia lycopersicella* (Lepidoptera: Gelechiidae) y los gusanos del fruto (Lepidoptera: Noctuidae), especialmente *Heliothis zea* (Calvo *et al.* 1994, Evo y Hilje 1993). Entre los patógenos sobresalen el apagón o tizón tardío (*Phytophthora infestans*), el pringue bacterial (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*), el tallo hueco (*Erwinia* sp.) y la maya (*Pseudomonas solanacearum*) (Calvo *et al.* 1994).

2.4 La mosca blanca *Bemisia tabaci*

2.4.1 Clasificación, biología y ecología

B. tabaci pertenece al orden Homoptera, suborden Stenorrhyncha, familia Aleyrodidae, subfamilia Aleyrodinae (Bink-Moenen y Mound 1990). El conocimiento y estudio de su biología y ecología es importante para manejarla mejor. La identificación en Aleyrodidae no se puede hacer con base en los adultos, sino en el cuarto instar ninfal (López-Avila 1992, Mound 1984).

El insecto posee aparato bucal perforador-chupador y presenta metamorfosis incompleta, con tres estadios: huevo, ninfa y adulto (Byrne y

Bellows 1991). La hembra oviposita en el envés de las hojas jóvenes (van Lenteren y Noldus 1990), los cuales inicialmente son blancos y al aproximarse la eclosión se tornan marrón (King y Saunders 1984). Miden 0,2-0,3 mm de longitud, y tienen un período de incubación de 7-15 días (Byrne y Bellows 1991).

Las ninfas son traslúcidas. Pasan por cuatro instares: el primero es el único móvil, pero se mueve muy poco, y todos se alimentan de la savia del hospedante, con excepción del último (Byrne y Bellows 1991). El estadio de ninfa dura 12-28 días. Los adultos miden 1-2 mm de longitud y son blancos; el macho es más pequeño que la hembra (Mound 1983). La reproducción puede ser sexual o por partenogénesis arrenotóquica; con la primera se obtiene descendencia de ambos sexos y con la segunda solo masculina (Byrne y Bellows 1991, Eichelkraut y Cardona 1989).

El ciclo de vida de *B. tabaci* varía según las condiciones climáticas y la alimentación (López-Avila 1992). A 15-25 °C completa su ciclo en 26,9 días, y a 25-35 °C lo hace en 21 días (Gerling *et al.* 1986). Las altas temperaturas, baja precipitación y baja humedad relativa favorecen su reproducción. El macho vive 9-17 días y la hembra 38-74 días (Kranz *et al.* 1982). En Palmira, Colombia, bajo condiciones de invernadero (26°C, 67% HR) y de campo (24°C y 70% HR), la duración del ciclo total de huevos a emergencia del adulto fue de $25,3 \pm 2,9$ y $28,3 \pm 2,9$ días, respectivamente (Eichelkraut y Cardona 1989). En Venezuela fue de 41,64 días, a 25°C y 65% HR (Salas *et al.* 1993).

La proporción de sexos es variable. Eichelkraut y Cardona (1989) informaron que es de 1:1, y Salas *et al.* (1993) de 2,73:1. En los trópicos, la fecundidad es de 75 huevos, según algunos autores (Eichelkraut y Cardona 1989) o de 195 según otros (Salas *et al.* 1993). Esta varía según el hospedante, humedad relativa y la edad del follaje (Gerling *et al.* 1986). Los trópicos generalmente se caracterizan por mantener temperaturas altas y constantes durante el año y

elevada humedad relativa, lo cual favorece a *B. tabaci* para reproducirse ininterrumpidamente y presentar generaciones superpuestas (Eichelkraut y Cardona 1989, Hilje *et al.* 1993). En ambientes favorables el tiempo generacional se acorta y la fecundidad aumenta, lo cual explica el incremento de sus poblaciones en la estación seca (Anzola y Lastra 1985, Hilje *et al.* 1993, Hilje 1995). 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).

En Costa Rica, la mayor actividad de vuelo se presenta a las 6:30-8:30 h y las 15:30-17:30 h (Arias y Hilje 1993a). El viento favorece su emigración (Byrne y Bellows 1991). La selección del sitio de alimentación y oviposición la realiza principalmente por el color (Byrne y Bellows 1991).

2.4.2 Biotipos

B. tabaci posee gran plasticidad genética, una evidencia de lo cual es su 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. (Brown 1993, Bush 1993). Existen muchos biotipos en el plano mundial (Brown *et al.* 1994, Brown *et al.* 1995b).

Supuestamente antes 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, sin provocar alteraciones fitotóxicas. 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.* 1995a). 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 1993, Brown *et al.* 1992).

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 (Brown *et al.* 1995b, Hilje *et al.* 1993).

2.4.3 Hospedantes

B. tabaci es muy polífaga, con más de 500 especies de plantas hospedantes mundialmente, que incluye cultivos y plantas silvestres, pertenecientes a 74 familias (Greathead 1992).

En Mesoamérica y áreas vecinas se han identificado 70 especies hospedantes, pertenecientes a 39 familias, tanto cultivados como silvestres; predominan Compositae (17 especies), Solanaceae (10), Cucurbitaceae (8), Malvaceae (7), Euphorbiaceae (5) y Leguminosae (4) (Hilje 1995). No obstante, no en todos se reproduce, destacando el algodónero, chile dulce y melón, en los que puede causar daños directos por extracción de savia, e indirectos por la secreción de mielcilla (Hilje y Arboleda 1993). Hay daños en *Ipomoea batatas* (camote) (Convolvulaceae); *Citrullus lanatus* (sandía), *Cucumis melo* (melón), *C. sativus* (pepino), *Cucurbita maxima* (zapallo), *C. mixta* (pipián) y *C. moschata* (ayote) (Cucurbitaceae); *Glycine max* (soya) y *Phaseolus vulgaris* (frijol) (Leguminosae); *Gossypium hirsutum* (algodónero) e *Hibiscus esculentus* (okra) (Malvaceae); *Capsicum annuum* (chile dulce), *Lycopersicon esculentum* (tomate), *Solanum*

melongena (berenjena), *S. tuberosum* (papa) y *Nicotiana tabacum* (tabaco) (Solanaceae) (Hilje 1995).

En Costa Rica, en zonas productoras de tomate y chile dulce se hallaron 19 especies de plantas silvestres que tenían síntomas de virosis o adultos de *B. tabaci*, en 14 de las cuales se detectaron geminivirus desconocidos, aunque solo cuatro mostraban síntomas: *Bidens pilosa*, *Desmodium* sp., *Sida rhombifolia* y *Spermacoce latifolia* (Rivas *et al.* 1995a).

2.4.4 Daño en el tomate

Actualmente, *B. tabaci* es la principal plaga del tomate en América Central y el Caribe (Hilje y Arboleda 1993). Tanto los adultos como las ninfas pueden causar daño directo, como ha sucedido en la República Dominicana y Venezuela (Hilje 1995). Este consiste en la succión de nutrimentos del follaje (savia elaborada) debilitando la planta, y en casos severos produce la muerte. Los insectos inyectan saliva a la planta, causando numerosas manchas necróticas. Además excretan abundante mielcilla, que sirve de sustrato para la formación de fumaginas. Estas interfieren con la fotosíntesis y el intercambio gaseoso en la planta y causan daño en la apariencia de los frutos (Byrne y Bellows 1991), reduciendo su valor comercial.

En el caso del biotipo B, sus ninfas están asociadas con el síndrome de la maduración irregular de los frutos, que causan al inyectar una toxina (Schuster *et al.* 1990).

El principal daño de *B. tabaci* en América Central y el Caribe es indirecto, por la transmisión de virus, sobre todo geminivirus (Brown y Bird 1992, Hilje y

Arboleda 1993). Estos reducen drásticamente la cantidad y calidad de frutos. Su transmisión es muy eficiente, y aún con poblaciones bajas los diseminan rápidamente en las parcelas comerciales (Hilje *et al.* 1993).

2.5 Los geminivirus

Estos fitovirus fueron reconocidos en el decenio de los 70, gracias a los avances en la microscopía electrónica. 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. 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). Para causar la infección, ambas deben permanecer unidas (Davies y Stanley 1989, Gilbertson *et al.* 1991).

Se alojan principalmente en el núcleo de las células del floema, aunque también se encuentran en las del xilema (Lastra 1993). La sintomatología típica en tomate incluye la clorosis intervenal y la reducción del crecimiento del follaje, encrespamiento severo en las hojas terminales y enanismo, lo cual provoca la disminución o ausencia de frutos (CATIE 1990, Lastra 1993).

B. tabaci transmite al menos 19 virus (Brunt 1992), de los cuales 15 han sido clonados y secuenciados. En el tomate destacan el virus del mosaico dorado del tomate, o tomato golden mosaic geminivirus (TGMV-BZ), en Brasil; el del moteado del tomate, o tomato mottle (ToMoV), de Florida; del rizado amarillo de la hoja del tomate, o tomato yellow leaf curl (TYLCV-SAR), de Cerdeña; TYLCV-AUS, de Australia; TYLCV-THA de Tailandia TYLCV-IR de Israel (Ramírez y Maxwell 1994). A la República Dominicana y otros países caribeños 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).

En América Central se han detectado cuatro geminivirus en tomate: 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).

2.6 Relación virus-vector-planta

La transmisión de geminivirus por *B. tabaci* es de tipo persistente circulativo, por lo que son extraídos de plantas enfermas y circulan dentro del vector hasta llegar a las glándulas salivales, para poder ser transmitidos (Lastra 1993).

El período de adquisición para virus asociados con el mosaico amarillo del tomate 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 período de latencia generalmente es de 24 h, y la transmisión suele ser intermitente, de 10-13 días (Bonilla 1995, Lastra 1993).

La infección se inicia cuando el insecto inocula los virus en el floema, donde se multiplican y desplazan por toda la planta (Lastra y Gil 1981). Tanto el TYLCV como el mosaico amarillo del tomate se translocan por toda la planta de tomate en menos de 24 h después de la inoculación (Ber *et al.* 1990, Rivas *et al.* 1995b); en ambos casos parece haber un gradiente de replicación y transporte, que hace que el virus se desplace continuamente hacia tejidos nuevos.

La curva de la epidemia en tomate es típicamente sigmoidea (Hilje *et al.* 1993). Su avance es mayor durante la fase de mayor crecimiento del cultivo, a los 30-50 días después de la siembra (dds) (CATIE 1990). En la siembra directa, aunque las plantas siempre están expuestas al vector, los síntomas se expresan claramente a los 45-50 dds (Asiático y Zoebisch 1992, Arias y Hilje 1993b). 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 especialmente de la fisiología de la planta (Hilje *et al.* 1993). La susceptibilidad de la planta de tomate a geminivirus disminuye con su edad (Lastra 1993). La mayor susceptibilidad (período crítico) comprende aproximadamente 40-50 dds (Acuña 1993, Franke *et al.* 1983).

2.7 Efecto de los virus en la fisiología de las plantas

Los virus se mueven dentro de la planta a través de plasmodesmos, que son estructuras tubulares de aproximadamente 20-30 nm de diámetro, las cuales

interconectan las células (Agrios 1988, Hull 1989, Smith 1972, Zaitlin y Hull 1987). Los plasmodesmos de plantas sanas no permiten el paso de material infeccioso, por lo que el virus codifica una proteína que modifica su estructura para utilizarlos. El movimiento intercelular es lento, pero se acelera en el floema y xilema, permitiendo el desplazamiento del virus por toda la planta (Fraser 1987, Godefroy-Colburn *et al.* 1990).

Cuando el virus está dentro de la planta, elimina su cápsula proteica e induce a la célula a sintetizar la enzima ADN polimerasa, que utiliza para su multiplicación e iniciar su infección (Agrios 1988, Hull 1989). El tipo de infección depende mucho del hospedante. Algunos son inmunes al virus, evitando su multiplicación, mientras que en otros casos evitan el movimiento intercelular (Zaitlin y Hull 1987).

Los geminivirus provocan alteraciones en el metabolismo de la planta de tomate. Reducen su contenido de proteínas y clorofila, debido a deformaciones que sufren los cloroplastos, lo cual provoca mosaicos y amarillamientos en el follaje. Asimismo, se reduce la cantidad de azúcar, almidón, la tasa neta de fotosíntesis, y se incrementa la respiración celular, como consecuencia de la síntesis del ADN y la proteína viral (Hull 1987, Leal y Lastra 1984). Al reducirse las hormonas reguladoras del crecimiento causan reducción del área foliar, enanismo y abarquillamiento de hojas (epinastia) (Agrios 1988). Además, evitan la distribución de sustancias metabolizadas hacia los puntos de crecimiento activo (tejidos meristemáticos) (Lastra 1993). Pueden reducir en 75-80 % la actividad fotosintética (Goodman *et al.* 1967).

Las plantas infectadas con el virus del mosaico amarillo del tomate, a los 46 días después de la inoculación reducen en 70% su peso seco, en 50 % su tasa

neta de fotosíntesis y la respiración celular aumenta en 80%, todo lo cual disminuye los rendimientos y, si la infección es temprana, mueren (Leal y Lastra 1984).

Existe relación directa entre el contenido nutricional de la planta y la susceptibilidad a la infección viral. En condiciones nutricionales favorables, el crecimiento de la planta mejora. Sin embargo, al mismo tiempo puede incrementar la susceptibilidad a la infección, lo que dependerá de las características de la planta y del virus presente (Graham 1983, Kaplan y Bergman 1985). La multiplicación del virus y la expresión de los síntomas, varían con el contenido nutricional de la planta y de sus órganos (Kaplan y Bergman 1985). Los nutrimentos ayudan a la síntesis de barreras físicas y químicas alrededor de los sitios de infección, para detenerla, incrementando la tolerancia hacia las enfermedades (Huber 1994).

En la nutrición mineral es más importante la disponibilidad de los nutrimentos que su cantidad total. Los trastornos provocados por una deficiencia temprana suelen no ser compensados por aplicaciones posteriores. No obstante, el estrés de nutrimentos provocado por patógenos puede ser compensado con un aumento en la disponibilidad de nutrimentos (Huber 1980). Esta es afectada por factores tales como la temperatura, actividad microbiana, pH, competencia de malezas, aereación, secuencia de cultivos, uso excesivo de herbicidas y fijación de nutrimentos (Malavolta *et al.* 1989). Las plantas que reciben una nutrición en la que los elementos requeridos son abastecidos en cantidades adecuadas, tienen mayor capacidad para protegerse de nuevas infecciones y contrarrestar las ya existentes (Agrios 1988).

La abundancia de algunos nutrimentos, como el nitrógeno, promueve la producción de tejido joven y succulento y puede prolongar la fase vegetativa, lo cual retarda la madurez de las plantas y las torna más susceptibles a patógenos. Su escasez hace que se debiliten, crezcan lentamente y envejecan rápidamente, haciéndolas susceptibles a patógenos que atacan a plantas débiles y de crecimiento lento (Kaplan y Bergman 1985).

La nutrición mineral influye sobre la función de los tejidos, la expresión de la enfermedad, así como sobre la virulencia y capacidad de sobrevivencia de los patógenos. Así, según la disponibilidad de nutrimentos, la planta responderá con alta resistencia si la nutrición es balanceada, o baja si no lo es (Huber 1980). Los nutrimentos forman parte de las células, enzimas y sustratos de la planta. Están involucrados en casi todos los mecanismos de defensa y actúan como inhibidores y reguladores del metabolismo de las plantas. Por tanto, para su buen desarrollo, la planta deberá tener una nutrición balanceada, ya que ello la protegerá del ataque de enfermedades (Agrios 1988, Huber 1980).

La infección por virus altera el contenido nutricional de las plantas hospedantes, con cambios drásticos en sus procesos bioquímicos y fisiológicos (Orlad y Arny 1961). En tomate el contenido de nitratos (NO_3) se redujo en hojas de plantas infectadas con el virus del mosaico del tabaco (TMV) (Cooper y Selman 1973). La raza del virus puede ser importante (Kaplan y Bergman 1985). Por ejemplo, en plantas de tomate, razas severas del virus del mosaico del tabaco (TMV) aumentaron el contenido de nitrógeno total en 16%, como porcentaje del peso seco, en comparación con plantas sanas, mientras que las no severas lo redujeron (Bergman y Boyle 1966). En otros casos, con razas severas puede aumentar o disminuir la concentración de manganeso, zinc, calcio y potasio (Fries *et al.* 1974).

Diferentes cultivares de una misma especie pueden presentar variaciones en su contenido nutricional, sean ellos susceptibles o no (Agrios 1988, Cordrey y Bergman 1979). Además, dependiendo del tiempo de inoculación, el estado fisiológico de la planta y la parte inoculada, podría modificarse el contenido nutricional de la planta (Stanley 1937).

Las infecciones virales alteran la composición de nutrimentos en plantas infectadas, lo cual podría incrementar o disminuir la concentración de elementos en ellas. Sin embargo, el aumento o disminución de un elemento podría afectar a otros elementos, por lo que un solo elemento podría no ser el causante de los síntomas de las enfermedades virales (Agrios 1988, Kaplan y Bergman 1985).

Para efectuar muestreos, es importante conocer el virus y la parte de la planta a muestrear, ya que se han detectado cambios en el contenido nutricional en plantas muestreadas a 24 h, una semana o un mes después de la inoculación (Kaplan y Bergman 1985).

Existen varios factores ambientales (humedad del suelo, temperatura, tipo de suelo, etc.), que pueden influenciar la relación entre la nutrición de la planta y los virus. Por ello, con fines de investigación, es recomendable trabajar bajo condiciones ambientales bien controladas (Kaplan y Bergman 1985).

El efecto de la fertilización de las plantas en relación con la expresión de la virosis, no ha aportado resultados congruentes (Martin 1976). Existen nutrimentos que favorecen a algunas enfermedades, mientras que otros las reducen (Fry 1982). Puede haber mayor susceptibilidad de algunas plantas a enfermedades virales en presencia de altas concentraciones de fósforo, aunque

esto no se ha comprobado totalmente. Este elemento forma parte en la estructura viral (Agrios 1988, Black 1968, Fraser 1987). Tanto el fósforo como el nitrógeno forman parte de la proteína viral, por lo que las variaciones de estos elementos podrían afectar la síntesis y multiplicación de virus (Fraser 1987, Seaker *et al.* 1982).

Se ha logrado disminuir la severidad del virus del mosaico amarillo del tabaco (TMV) con aplicaciones de fósforo en tabaco (Spencer 1935), y magnesio (Seaker *et al.* 1982); del virus X occidental en cerezas y duraznos con zinc (Helton 1961); del TYLCV en tomate con boro, manganeso y zinc, (Zaher 1985). Estos resultados indican que la nutrición mineral podría ser integrada como complemento de prácticas agrícolas para el manejo de enfermedades (Huber 1994, Palti 1981).

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

Los intentos en la búsqueda de un manejo adecuado de *B. tabaci* y sus geminivirus asociados, ha sido incesante en los últimos años. Sin embargo, ello es complejo, pues *B. tabaci* posee gran habilidad para colonizar nuevas áreas (Gerling *et al.* 1986), tiene alta fecundidad y ciclo de vida corto (Brown 1993), así como muchos hospedantes, la mayoría silvestres (Greathead 1992).

La solución del problema mediante insecticidas ha sido insatisfactoria, debido a la capacidad del insecto para desarrollar resistencia a ellos en corto tiempo (Brown *et al.* 1991), a su alta capacidad reproductiva (Butler *et al.* 1986), y a que con bajos números de adultos se infectan plantaciones completas (Hilje 1993).

En el caso del tomate, esto indica la necesidad de buscar opciones de manejo preventivas contra el vector en los primeros 60 días del cultivo (período crítico), que retrasen al máximo el desarrollo de la epidemia (Hilje 1993).

2.8.1 Control químico

Con el combate químico convencional se aumenta el riesgo de eliminar enemigos naturales e incrementar las poblaciones de otros insectos dañinos del tomate, como el gusano alfiler (*Keiferia lycopersicella*), gusanos del fruto (Lepidoptera: Noctuidae) y mosca minadora (*Liriomyza* sp.) (CATIE 1990).

En varios países *B. tabaci* ha desarrollado resistencia a algunos insecticidas organofosforados, organoclorados, carbamatos y piretroides (Abdeldaffie *et al.* 1987, Dittrich *et al.* 1990, Prabhaker *et al.* 1985, Schuster *et al.* 1989). 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).

El uso de productos químicos no convencionales, como los de origen biológico, aceites minerales y detergentes, es promisorio. 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 rápida diseminación de la epidemia (Asiático y Zoebisch 1992).

La búsqueda de repelentes, tanto sintéticos como naturales, se ha intensificado, con resultados aún insatisfactorios. Existe cierta repelencia al aceite mineral Volck 100 Neutral y ninguna a varios derivados del nim (Margosan-O, Azatin y Nim 80) (Arias y Hilje 1993, Cubillo *et al.* 1994).

2.8.2 Cultivares resistentes

Representan una valiosa opción preventiva. Existen dos posibilidades: resistencia al vector o a virus.

Para la primera, existen cultivares de berenjena y pepino resistentes a la mosca blanca de los invernaderos (*Trialeurodes vaporariorum*) (Ponti *et al.* 1990), así como especies silvestres de *Lycopersicon* con tolerancia a *B. tabaci*, con las que se han iniciado programas de mejoramiento genético (Berlinger y Dahan 1989). En cultivares de algodón con hojas pubescentes el ataque del insecto es mayor, pues prefiere ovipositar en la base de los tricomas, y los parasitoides y depredadores son menos eficientes (Cock 1992). La presencia de tricomas glandulares en tomate, los cuales producen exudados que matan al insecto (Costa 1969) podría ser una forma de resistencia, pero es una característica inestable genéticamente (Saborío 1994).

Las fuentes de germoplasma disponibles comercialmente carecen de genes de resistencia hacia *B. tabaci* o a geminivirus, pero existen materiales silvestres con potencial genético, tales como *L. pimpinellifolium*, *L. peruvianum* y *L. hirsutum* (Saborío 1994). Al ser infectadas, las plantas no muestran síntomas y su crecimiento, floración y fructificación no son afectadas (Ioannou 1985b). De ellas han surgido cultivares con tolerancia al TYLCV (Laterrot 1992), tales como TY-20,

TY-70, TY-71 (Israel); Fiona, Jackal, TY-KING, TY-DAL, TY-GOLD, TY-COON, TY-MOOR (Holanda); BB 234, BB235, SARIA (EE.UU.); Big Strike, Top 21 (Francia). Se desconoce si los mecanismos de tolerancia al TYLCV funcionan contra los geminivirus presentes en América Central (Saborío 1994).

2.8.3 Combate biológico

El control de *B. tabaci* como vector, mediante este método, parece poco factible, ya que aún con niveles poblacionales bajos puede diseminar virus rápidamente (Hilje 1993). Esto sugiere su integración con el uso de cultivares resistentes y de prácticas agrícolas (Cave 1994).

Se conoce poco sobre la ecología de sus enemigos naturales (Cock 1992), entre los que se incluyen depredadores, parasitoides y hongos entomopatógenos.

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, Cave 1994, Serrano et al. 1993). 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). Los hongos entomopatógenicos detectados son *Paecilomyces fumosoroseus* y *Verticillium lecanii* (Hall 1993), aunque otros que afectan a *B. tabaci* en otras latitudes, como

Aschersonia aleyrodis 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 (Hall 1993).

El combate biológico no puede ejecutarse en forma aislada, ya que depende del uso racional de plaguicidas, complementado con prácticas agrícolas que favorezcan la proliferación de depredadores y parasitoides. Es más viable para cultivos que sufren daño directo de *B. tabaci* (Cock 1992, Gerling 1990).

2.8.4 Prácticas agrícolas

Parecen ser un método más apropiado para el tomate, pues muchas son preventivas. Sobresalen las fechas de siembra, períodos 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 (Hilje 1993, Palti 1981, Salguero 1993).

Protección de almácigos. Es la opción de manejo más viable contra el vector en los primeros 30 días del cultivo. El establecimiento de almácigos cubiertos con mallas finas evita el contacto entre *B. tabaci* y las plantas de tomate, impidiéndole inocular geminivirus (Cubillo *et al.* 1994, Quirós *et al.* 1994, Rivas *et al.* 1994). Por el contrario, en la siembra directa las plantas están expuestas al vector desde temprana edad, lo que reduce severamente los rendimientos (Hilje 1993). 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. Existe preferencia de *B. tabaci* por ciertos hospedantes, lo cual puede explotarse impregnando cultivos trampa con insecticidas (Hilje 1993). 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 logró reducir el número de adultos y retardar la virosis, al intercalar frijol-vainica (*Phaseolus vulgaris*) tratado con insecticida granulado, con el tomate (Peralta y Hilje 1993).

Coberturas al suelo. 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). En este país se evaluaron varias coberturas vivas, para disminuir el contraste entre el suelo desnudo y el cultivo. Con el uso de coberturas de malezas espontáneas, maní forrajero (*Arachis pintoi*), mucuna (*Stylosanthes deeringianum*) y cinquillo (*Drymaria cordata*) se redujeron sustancialmente la abundancia de adultos y la virosis (Amador y Hilje 1993, Blanco y Hilje 1995).

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, Eichelkraut y Cardona 1989, Hilje *et al.* 1993), es posible planificar las siembras al inicio de aquélla, para escapar al vector y los virus (Salguero 1993). No obstante, ello depende de los precios del tomate en el mercado.

2.9 Hibridación de ácidos nucleicos

El diagnóstico y cuantificación de geminivirus en plantas infectadas se efectúa generalmente mediante la técnica de hibridación de ácidos nucleicos (Robinson 1988). Esta se basa en la complementariedad de dos bandas de ácidos nucleicos, las 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).

Para el desarrollo de esta técnica es necesario utilizar un soporte sólido, con membranas de nylon o nitrocelulosa. Sobre ella se coloca la muestra vegetal por identificar, la cual 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).

Generalmente se utilizan sondas radioactivas marcadas con ^{32}P . Sin embargo, se pueden utilizar métodos no radiactivos, 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.

Posteriormente, la membrana se somete a varios lavados, para eliminar el exceso de sonda y evitar reacciones inespecíficas. 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.).

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Explorar el efecto de la poda y la fertilización sobre la reducción de la severidad del mosaico amarillo del tomate.

3.2 Objetivos específicos.

- Determinar si las podas, seguidas por la fertilización foliar, reducen la severidad del mosaico amarillo del tomate.

- Determinar las etapas del desarrollo de la planta en que la poda y la fertilización foliar tienen mayor potencial de reducir la severidad del mosaico amarillo del tomate.

IV. HIPOTESIS

La poda y fertilización foliar de la planta de tomate atenúan la severidad del mosaico amarillo del tomate.

V. MATERIALES Y METODOS

5.1 Ubicación del experimento

El experimento se realizó de marzo a 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, 83° 38' O y 590 msnm, en la zona de vida de bosque húmedo premontano (Tosi 1969). Los valores anuales promedio de precipitación, temperatura, humedad relativa y radiación solar son de 2628 mm, 21°C, 88% HR y 16,4 Mj/cm², respectivamente (Jiménez 1994). Durante el experimento, los promedios diarios dentro del invernadero fueron de 27,3 C° y 73,5 % HR.

5.2 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 (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 estéril, 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. Se utilizó como abono orgánico Bocashi, que contiene una mezcla de suelo, gallinaza, carbón, granza de arroz, semolina de arroz y concentrado para ganado, en proporción 5:3:3:3:1:1, más cal y melaza (Miranda y Guerrero 1994).

Se depositaron 5-7 semillas por cartucho. Estos se cubrieron con sacos de nylon, para mantener la humedad del suelo alta y asegurar la germinación. Luego de la germinación, se confeccionó un túnel de protección, utilizando varillas de

bambú de 2 m de longitud, distribuidas sobre el suelo cada 0,5 m. Los extremos de las varillas se enterraron 10 cm formando una U invertida, unidas entre sí por cuerdas de nylon. Sobre las varillas se extendió una malla Agronet-S (Kayserberg S.A., Alemania) para evitar el contacto de *B. tabaci* con las plantas (Cubillo *et al.* 1994, Quirós *et al.* 1994, Rivas *et al.* 1994).

En los primeros 10 días después de la germinación, los riegos se efectuaron una vez al día, y luego se extendieron a 2-3 días hasta el momento del trasplante. Se raleó a los 10 días después de la germinación (ddg), dejando aquella planta más vigorosa. Después de la germinación se realizó una aplicación de Lannate al suelo, para controlar insectos cortadores y el fungicida Mancozeb, semanalmente al follaje. En cuanto a fertilización, se aplicó fórmula completa (15-15-15), a razón de 100 g/m², a los 8 y 20 ddg.

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

Se sembraron 175 plantas (una por maceta) separadas a 0,35 m entre macetas y 0,5 m entre hileras. Se colocaron sobre el piso del invernadero. Al trasplantar se realizó el primer riego, para aumentar la disponibilidad de nutrimentos a la planta, reducir el estrés del trasplante, y acortar el tiempo de recuperación. El volumen de riegos varió de 1,5-2,8 l desde el momento del

trasplante hasta el final del ciclo del cultivo respectivamente (anexo 2), a intervalos de tres días, ya que la alta temperatura dentro del invernadero causó rápida evaporación del agua del suelo y alta evapotranspiración. Los tutores se colocaron 30 días después del trasplante (ddt), cuando también se aporcaron las plantas.

Cada cuatro días se aplicó el insecticida organoclorado endosulfán (Thiodan) (2ml/l) para controlar adultos de *B. tabaci* que pudieran ingresar al invernadero. El insecticida biológico Javelin (*Bacillus thuringensis*) (5g/l) se aplicó cuatro veces desde los 20 ddt, a intervalos de 15 días, para controlar al gusano alfiler (*Keiferia lycopersicella*). También los fungicidas Ridomil y Daconil (2g/l) a intervalos de 14 días, hasta antes de la fructificación, para controlar a *Phytophthora infestans*. y el bactericida Agrimicin (2 g/l) para controlar *Pseudomonas solanacearum*.

5.3 Tratamientos y diseño experimental

Consistieron en hacer una poda a la planta, dejando únicamente un grupo de hojas en la parte terminal (penacho), combinada con aplicaciones de Fertilón Combi (MgO, S, Mn, Fe, Cu, Zn, B, Mo, Co), en dosis de 1 kg / ha. Tal práctica se realizó cada 10 días, entre 10-50 ddt.

Los tratamientos fueron cinco, en plantas inoculadas con virus, más un testigo absoluto (TTA) (plantas sin virus, sin poda y con fertilización foliar) y uno relativo (TTR) (plantas con virus sin poda y con fertilización foliar). En ellos se realizó la poda y la fertilización foliar a los 10 (T10), 20 (T20), 30 (T30), 40 (T40) y 50 ddt (T50).

Se estableció un diseño de bloques completos al azar, con cinco repeticiones; los tratamientos se distribuyeron en cada repetición mediante una

tabla de números aleatorios (Little y Hills 1983). Cada tratamiento se conformó con cinco macetas (parcela útil). A todos los tratamientos se les proporcionó fertilización básica común, de 400-600-300 kg/ha, (N-P₂O₅-K₂O), en aplicaciones a los 5, 15, 25, 35 y 45 ddt, en cantidades determinadas según la curva de absorción del cultivo (Bertsch 1980, Cerdas 1988).

5.4 Inoculación

Se efectuó a los 5 ddt, cuando la planta estaba recuperada del estrés del trasplante. Se utilizaron adultos de *B. tabaci*, que fueron colocados en las plantas sanas dentro de microjaulas plásticas, por 48 h. Provenían de colonias criadas 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.* 1995b). Se colocaron cinco adultos por microjaula. Estas tienen 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; la microjaula se fijó a la planta con una prensa, para que las moscas tomaran el virus o lo inocularan desde el envés de la hoja.

5.5 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 1985a).

0 = Sin 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 y 5 = Síntomas moderados de clorosis marginal e internerval, encrespamiento de hojas, con evidente reducción del crecimiento de la planta. Reacción general de la planta moderada (3), intermedia (4), o severa (5)

b) Altura

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 la "guía" de mayor altura.

c) Concentración de nutrimentos

Al trasplantar, se muestreó el tejido foliar de las plantas provenientes del almácigo, para conocer su contenido de minerales o estado nutricional. Se realizaron muestreos a los 15, 30, 45 y 60 ddt, en cinco plantas por tratamiento, para obtener una muestra compuesta de 100 g representativa de cada tratamiento. Se muestreó la 3ª o 4ª hoja con su pecíolo, a partir del ápice.

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

Con excepción del N, el primer paso en la determinación de los nutrimentos foliares 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. El objetivo es convertir las formas ligadas a estructuras orgánicas a formas "solubles" y "minerales".

Se pesó 1 g de tejido molido en un erlenmeyer de 125 ml y se le agregó 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 se transfirió a un balón aforado de 100 ml, a partir de la cual se determinaron 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 agregó 3 ml de cloruro de lantano 1%, y se aforó. Se determinaron las cantidades de los elementos por medio de un espectrofotómetro de absorción atómica. Los análisis de Mn, Cu, Fe y Zn se realizaron directamente del concentrado, en un espectrofotómetro de absorción atómica.

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

El análisis del nitrógeno se realizó empleando el método Microkjeldahl. 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

Se obtuvo el peso seco acumulativo de hojas, tallo y raíz de las plantas de cada tratamiento. El follaje recolectado en cada poda se depositó en bolsas de papel y se trasladó a hornos desecadores (70°C). Al final se pesó y se sumó al de peso seco de hojas obtenido al final del ciclo de cultivo. El peso seco de frutos se

obtuvo mediante una muestra de 10 frutos representativos de cada categoría (1ª, 2ª y 3ª), las que se utilizaron para el cálculo del peso seco total de los frutos.

e) Concentración de geminivirus

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 vegetal. Se trasladaron al Laboratorio del Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular (CIBCM) de la Universidad de Costa Rica, en donde se determinó la concentración de ADN viral, mediante el método de hibridación de ácidos nucleicos, utilizando sondas frías (Maxwell *et al.* 1994) y sondas calientes (radioactivas) (Pilar Ramírez 1995, UCR, com. pers.)

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 1000 µl 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 ADN de la planta; luego se clarificó por centrifugación a 10000 rpm durante 5 min. Del sobrenadante se trasladaron 600 µl de la solución a un tubo limpio, al que se le agregó 900 µl de la solución amortiguadora STE 1X. A esta solución se le llama muestra concentrada.

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

Preparación de la membrana para hibridación. La membrana de nylon se colocó sobre un Bio Dot, el cual facilita la ubicación de la muestra concentrada sobre la membrana de nylon. Se tomaron 200 ml de la muestra concentrada 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 de la planta, así como material celular desintegrado. Se colocó la membrana en un horno a 80°C por 30 min, para adherir el ADN viral a la membrana. 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, colocando 0,2 ml de solución amortiguadora / cm² de membrana, para sellar los espacios de la membrana en donde no había ADN, y que, al momento de la hibridación la sonda no se adhiriera en los espacios donde no había ADN en la membrana.

Hibridación. Se utilizó una sonda específica para el virus del mosaico amarillo del tomate, la cual se tuvo que desnaturalizar, para que se pudiera unir con el ADN viral de la muestra, el cual ya estaba en simple banda. Este 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 20 ng/ml, durante 16 h a 65 °C. Se efectuaron seis lavados de pos-hibridación a la membrana: dos con la solución amortiguadora 2X SSC 0,5% SDS (20x SSC=3M NaCl, 0,3M Na-citrato, pH 7), el primero por 2 min y el segundo, por 20 min a temperatura ambiente; tres con la solución amortiguadora 0,2X SSC 0,1% SDS, los dos primeros a 65 °C por 30 min, y el otro a temperatura ambiente por el mismo tiempo; uno con la solución amortiguadora 2X SSC sin SDS, por 5 min, enjuagando con agua destilada entre cada lavado. En los primeros dos a temperatura ambiente durante 2 y 20 min respectivamente, en los siguientes dos por 10 a 65°C y por último un lavado de 10 min 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 ninguna afinidad por el ADN y su función es bloquear los sitios en blanco de la membrana. Se aplicó la enzima streptavidina fosfatasa alcalina (SAAP) por 10 min. Se efectuaron cuatro enjuagues con la solución amortiguadora 1X (0,05 M Tris pH 10, 1 M NaCl mas 0,1 % SDS), el primero por 5 min y los restantes por 20 min, haciendo un lavado con agua destilada entre uno y otro en igual tiempo. Se finalizó con un enjuague con solución amortiguadora 1X sin SDS, por 20 min. Se colocó la membrana dentro de una bolsa plástica y se le agregó el 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 luego se colocó en una solución reveladora por 5 a 10, min hasta que cambio 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. La información obtenida se procesó mediante el "software" NIH imagen/68 k 1.57 (Versión para McIntosh).

Para el desarrollo del método de hibridación de ácidos nucleicos con sondas calientes o radioactivas (Fig 1.), se siguieron los pasos recomendados en un protocolo de hibridación de ácidos nucleicos con radioactividad modificado (Ph D. Pilar Ramírez 1995, CATIE, com. pers.)

Prehibridación. El principio es el mismo que con sondas frías, es decir, sellar los espacios en blanco de la membrana donde no está el ADN. Se utilizó una solución compuesta por la solución amortiguadora 6xSSC, BLOTTO 0.05x (5% de leche Dos Pinos descremada y pulverizada, disuelta en agua conteniendo 0,02% azida de sodio, 1% del detergente neutro NP40, inhibidor de nucleasas) y 10 ug/ul de ADN de espermatozoos de salmón fragmentado y desnaturizado. Se usó 0,2 ml de solución/cm² de membrana. Se incubó a 68°C por 1 h, para luego agregarle la solución de hibridación.

Hibridación. Se utilizó la solución compuesta por la solución amortiguadora 6xSSC, 0,5% SDS, 100 ug/ml de ADN de espermatozoos de salmón fragmentado y desnaturizado, más la sonda radioactiva previamente desnaturizada. Se incubó a 68°C por 12 h a una concentración de 0,2 ml/cm² de membrana. Los lavados de poshibridación, determinaron la astringencia de la reacción de hibridación. Se realizaron dos lavados por 10 min en la solución amortiguadora 2xSSC, 0,1 % SDS a temperatura ambiente, más uno por 30 min con la solución amortiguadora 2xSSC, 0,1 % SDS a 48°C, para eliminar el exceso de radioactividad. Se trabajó con mediana astringencia. Se necesitó un lavado más por 30 min con la solución amortiguadora 1xSSC, 0,1 % SDS a 68°C. Se forró la membrana con "Saran Wrap" en condiciones húmedas, y se le colocó la película de rayos-X a ambos lados de la membrana. Se incubó en la oscuridad a -70°C por 60 h. Luego se reveló y analizaron las membranas, al igual que las sondas frías. El esquema del procedimiento para la detección de gémivirus en tomate con sondas calientes se sintetiza en la Figura 1.

Preparación de la sonda marcada con radioactividad

- Se toma 25-100 ng de ADN de un plásmido que tiene insertado la molécula B del ToYMV, que será la secuencia patrón (ADN "template"). Agregar 2 ul de imprimadores que son onigonucleótidos 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-Biotilado 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 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 para la reacción de marcaje, ya que sino esta se sigue produciendo.
- Hacer una precipitación diferencial, que consiste en remover los nucleótidos 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 nucleótidos no incorporados se eliminarán 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 de 80° C por menos de 1 h. Después centrifugar a 10000 rpm en tubos de microcentrifuga por 30 min. a 0° C. Eliminar el sobrenadante con cuidado, ya que la sonda está en el fondo del tubo (ADN en forma de "Pellet").
- Colocar el "Pellet" (ADN) en el fiolizador, 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 13 de junio y se prolongó durante siete semanas. La recolección se hizo a mano, dos veces 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 contrastes ortogonales para todos los tratamientos, utilizando el paquete estadístico SAS, para las siguientes variables: índice de severidad, altura de planta, concentración de nutrimentos, biomasa, número de frutos, peso de frutos, peso seco de hojas, tallos y raíz.

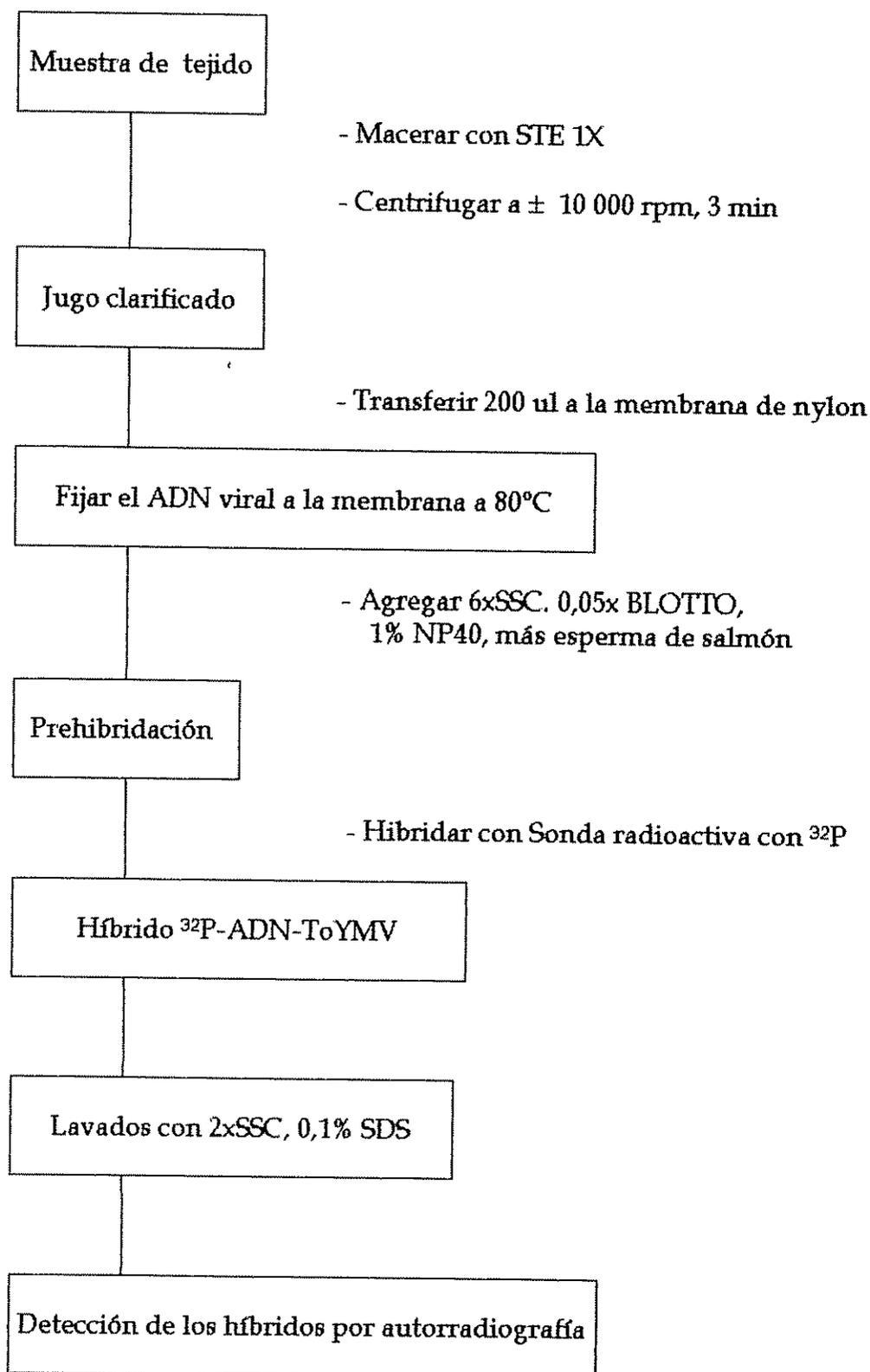


Figura 1. Esquema del procedimiento de detección del ToYMV, usando sondas radioactivas, mediante hibridación de ácidos nucleicos.

VI. RESULTADOS

La germinación en los cartuchos fue de 90%. En los que no hubo germinación se hizo un trasplante de los que tenían más de cuatro plantas, a los 15 días después de la siembra (dds), para homogeneizar el almácigo. El desarrollo de las plantas en los almácigos protegidos fue satisfactorio, ya que no presentaban síntomas de virosis. Por el uso de la malla cobertora y el sitio aislado donde se mantuvieron, se supone que no portaban virus. El trasplante se realizó a los 30 dds, con plantas de 35 cm de altura, en promedio.

En el invernadero, el desarrollo de las plantas fue normal (Anexo 1), favorecido por la temperatura y la humedad relativa, que variaron entre 18-29°C y 50-82%. La irrigación fue más o menos constante durante el experimento, y aumentó a 1,5-2,8 l al final (Anexo 2). Fuera del invernadero, la radiación solar máxima fue de 23 Mj/cm², y la mínima de 13 Mj/cm² (Fig. 2). Aparte de *B. tabaci*, apareció el gusano alfiler (*Keiferia lycopersicella*) a los 30 ddt, pero se combatió con tres aplicaciones de insecticida espaciadas semanalmente, evitando que afectara el experimento. Hubo problemas serios con la maya (*Pseudomonas solanacearum*), que causó 100% de incidencia hacia el final del experimento, pero previamente fue imperceptible, enmascarada por la virosis; sus primeros síntomas se observaron a los 45 ddt, coincidiendo con la floración.

La severidad del mosaico amarillo del tomate fue muy similar entre los tratamientos (Fig. 3A, Anexo 3), con excepción del TTA, en el que hubo mayor retardo en la expresión de la virosis ($p < 0,01$) (Cuadro 1). En él hubo síntomas muy leves a los 30 ddt, mientras que en el resto los hubo desde 14 ddt. En TTR fue mucho más intensa que en los podados ($p < 0,05$) en las primeras tres semanas. Los tratamientos podados no difirieron entre sí ($p > 0,05$), aunque entre 35-42 ddt hubo cierta diferenciación. En ningún tratamiento se excedió el grado de severidad 3.

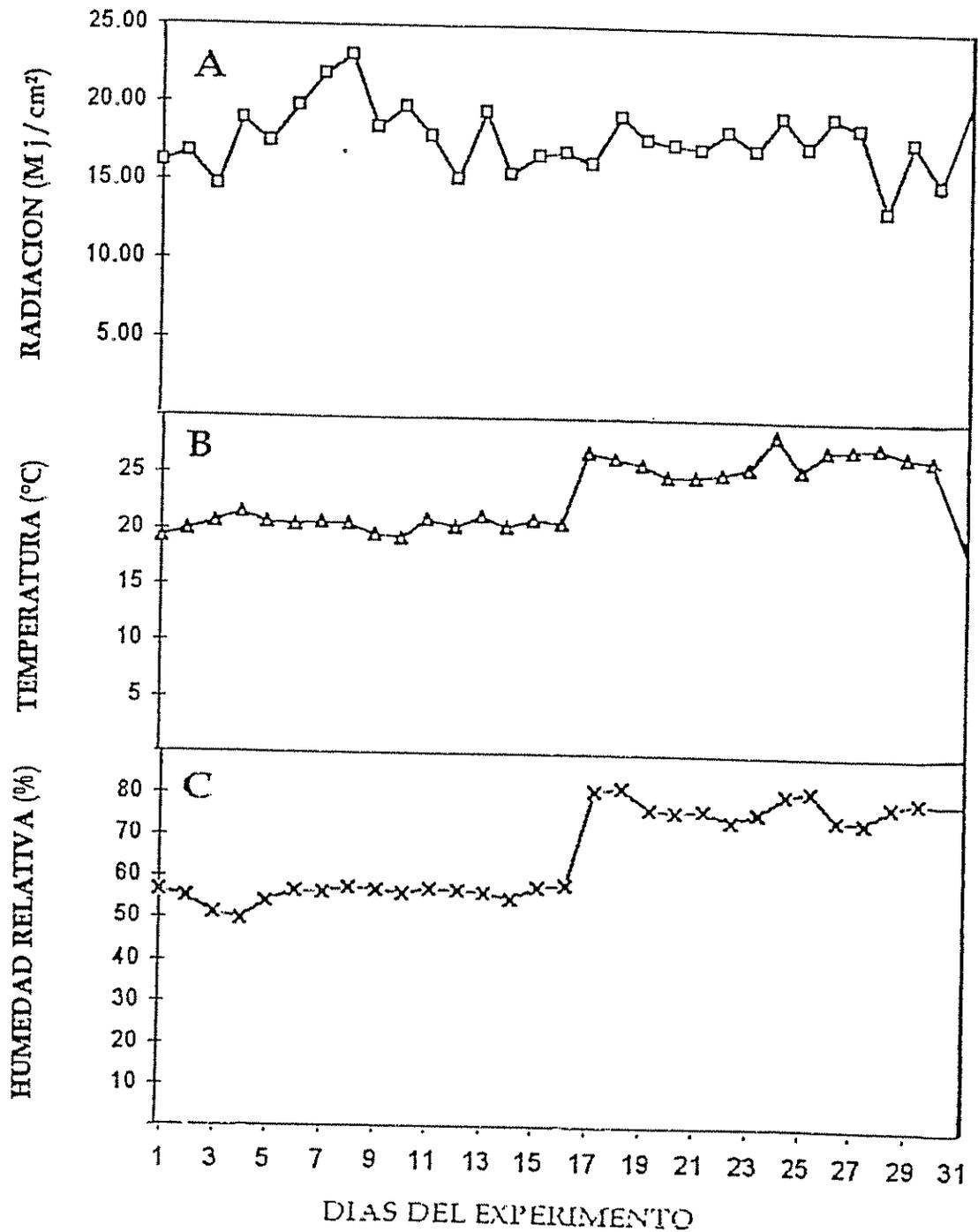


Figura 2. Promedio mensual de radiación solar (A), temperatura (B) y humedad relativa (C) en el invernadero durante el experimento (ver anexo 8).

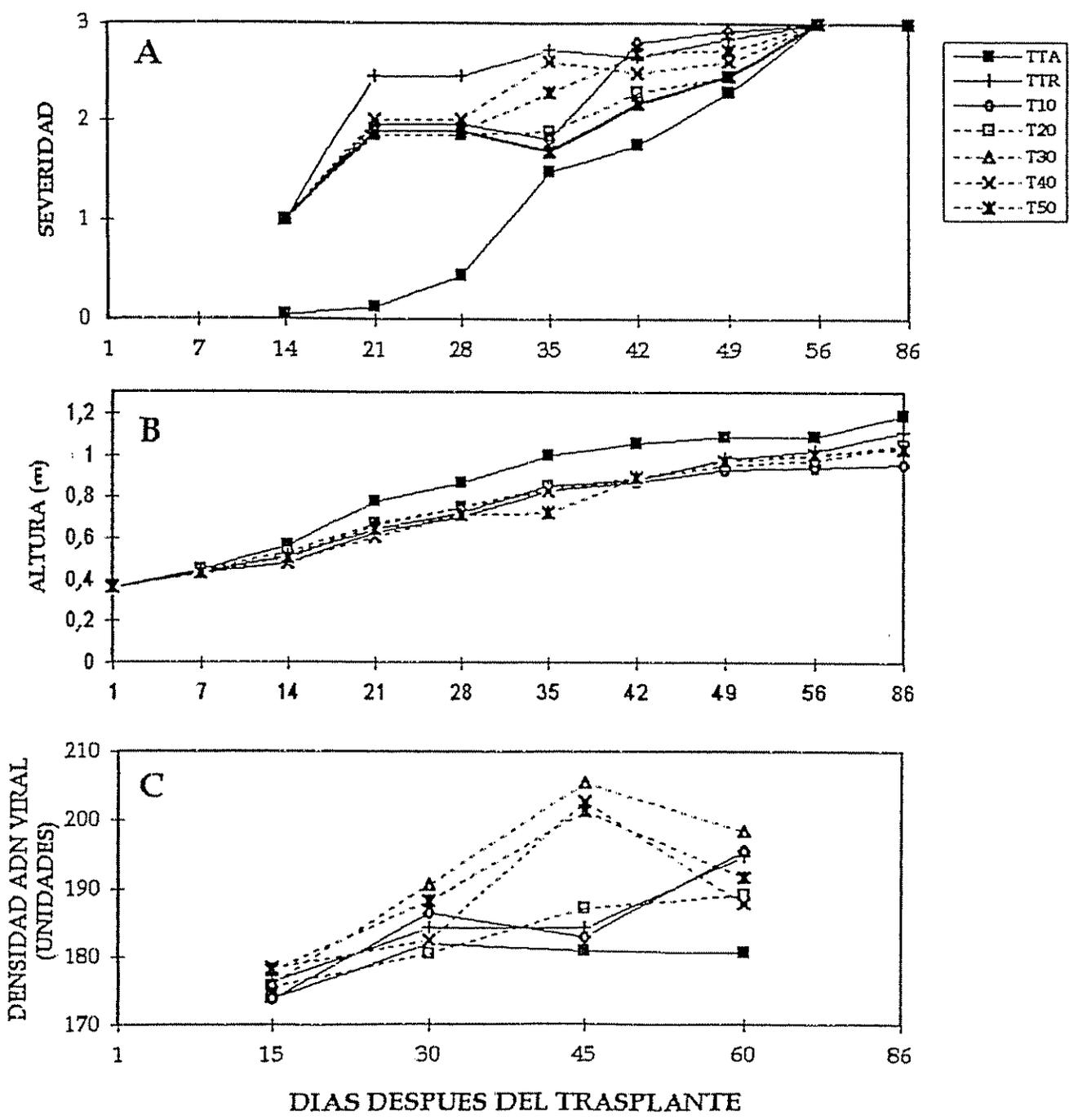


Figura 3. Promedios del índice de severidad (A), altura de la planta (B) y concentración del ADN viral (C), según los tratamientos.

Cuadro 1. Análisis de varianza y contrastes ortogonales globales (PR>t) para la altura de la planta y la severidad del mosaico amarillo del tomate.

COMPARACIÓN	SEVERIDAD	ALTURA
R ²	0.9566	0.9764
COEF. VAR. (%)	13.2526	5.0577
Repeticiones (REP)	0.0001**	0.0001**
Tratamientos (TRAT)	0.0001**	0.0001**
REP*TRAT	0.0006**	0.0001**
Epoca	0.0001**	0.0001**
TRAT*Epoca	0.0001**	0.0002**
TTA vs. Resto	0.0001**	0.0001**
TTR vs. Podados	0.0014**	0.2057
TRAT. Podados		
Lineal	0.4119	0.3986
Cuadrático	0.0729	0.1812
Cúbico	0.1079	0.0691

Las cifras con un asterisco fueron significativas ($p < 0,05$) y con dos asteriscos altamente significativas ($p \leq 0,01$).

Cuadro 2. Análisis de varianza y contrastes ortogonales globales (PR>t) para el número de frutos, rendimiento total y biomasa total.

COMPARACION	BIOMASA TOTAL	RENDIM.	Nº FRUTOS
R ²	0.8306	0.8911	0.7452
COEF. VAR. (%)	14.4083	18.3572	18.9517
Repeticiones (REP)	0.0151*	0.1072	0.0259*
Tratamientos (TRAT)	0.0001**	0.0001**	0.0001**
TTA vs. Resto	0.0001**	0.0001**	0.0001**
TTR vs. Podados	0.0001**	0.5954	0.9541
TRAT. Podados			
Lineal	0.1594	0.0138*	0.8419
Cuadrático	0.0549	0.8778	0.8661
Cúbico	0.1735	0.0038**	0.3353

Las cifras con un asterisco fueron significativas ($p < 0,05$) y con dos asteriscos altamente significativas ($p \leq 0,01$).

La altura mantuvo una tendencia ascendente, similar entre los tratamientos (Fig. 3B), aunque los valores fueron superiores en TTA ($p < 0,01$) (Cuadro 1), el cual desde las primeras semanas mostró buen vigor y desarrollo. En TTA, TTR, T10 y T20, hacia el final del experimento las plantas crecieron hasta cubrir la superficie entre las hileras de cada bloque, y tuvieron mayor floración; T30, T40 y T50 tuvieron menor desarrollo vegetativo.

En biomasa, TTA, TTR y T20 fueron superiores (Fig. 4). Hubo diferencias ($p < 0,05$) entre repeticiones y tratamientos ($p < 0,01$) (Cuadro 2). TTA superó mucho a los demás ($p < 0,01$), y TTR a los podados. Estos últimos no difirieron entre sí ($p > 0,05$). Para hojas, tallo y raíz hubo notables diferencias ($p < 0,01$) entre tratamientos, pero no entre repeticiones (Cuadro 3). Aunque TTA superó mucho al resto para la biomasa del tallo y raíz ($p < 0,01$), no lo hizo para el follaje ($p > 0,05$), mientras que TTR superó en todo a los podados ($p < 0,01$). Estos últimos no difirieron entre sí ($p > 0,05$); T20 tuvo la mayor biomasa total y T10 la menor (Fig. 4). Los frutos aportaron la mayor proporción de biomasa, seguidos por el tallo, follaje y raíces (Figs. 4, 5). Los rendimientos fueron superiores en TTA ($p < 0,01$) (Fig. 5). TTR no difirió de los podados ($p > 0,05$) (Cuadro 2).. Entre estos últimos hubo un efecto cúbico significativo. T30 tuvo los valores menores, pero T20 incluso superó a TTR (Fig. 5).

La producción de frutos de primera calidad (1a.) fue muy baja en todos los tratamientos, y predominaron los de 3a. (Figs. 5, 6). Para las tres categorías, TTA superó a todos ($p < 0,01$), mientras que TTR no superó a los podados ($p > 0,05$) (Cuadro 4). Estos últimos no difirieron entre sí para las calidades 1a. y 3a., pero sí para la 2a., en la que hubo un efecto cúbico significativo ($p < 0,01$). TTR, T30 y T40 no produjeron ningún fruto de 1a. En 2a., T20 fue el más alto y T40 el más bajo, mientras que en 3a., T40 fue el más alto y T20 y T30 los más bajos.

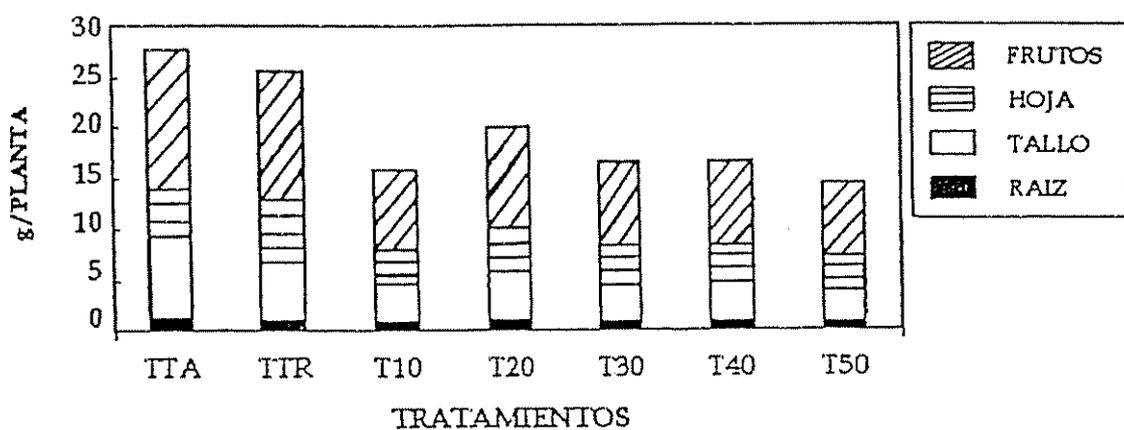


Figura 4. Promedios de peso seco por estructura, según los tratamientos.

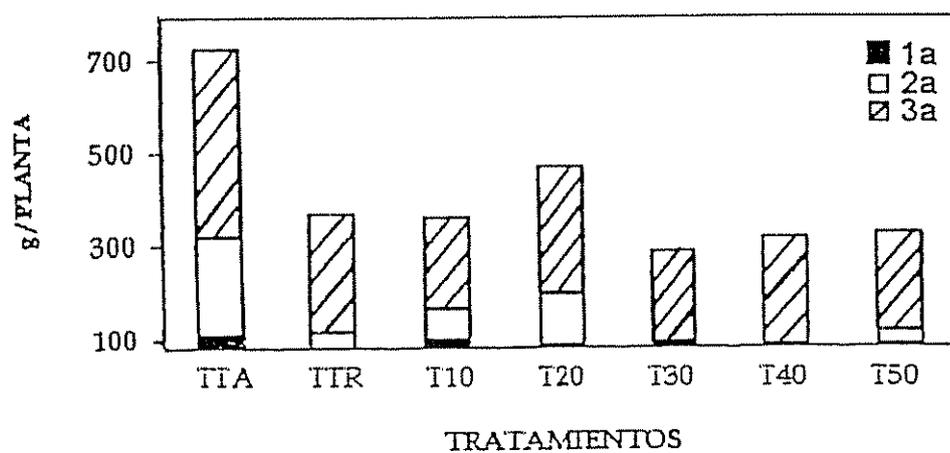


Figura 5. Promedios de peso fresco de los frutos, por clases, según los tratamientos.

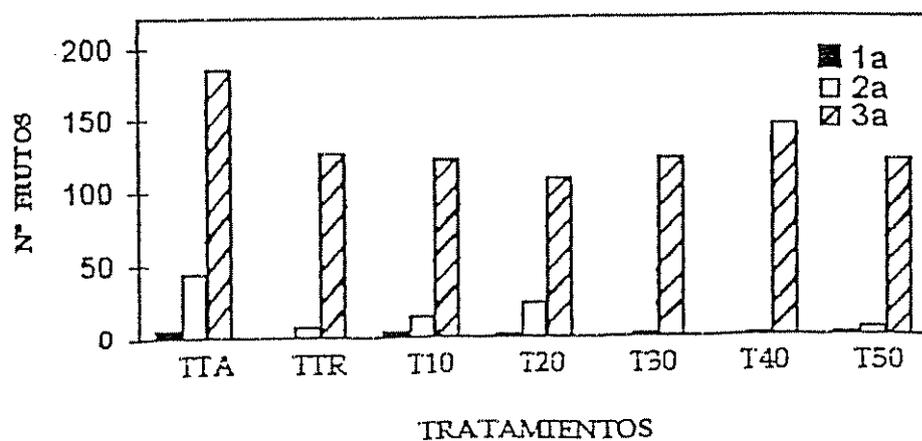


Figura 6. Promedios del número total de frutos por clases, según los tratamientos.

Cuadro 3. Análisis de varianza y contrastes ortogonales globales (PR>t) para el peso seco de las hojas, tallo y raíces.

COMPARACION	HOJAS	TALLO	RAICES
R ²	0.6950	0.7957	0.7241
COEF. VAR. %	19.4251	22.1470	15.5671
Repeticiones (REP)	0.0997	0.0059	0.1542
Tratamientos (TRAT)	0.0001**	0.0001**	0.0001**
TTA vs. Resto	0.1230	0.0001**	0.0001**
TTR vs. Podados	0.0001**	0.0021**	0.0047**
TRAT. Podados			
Lineal	0.7606	0.1396	0.1612
Cuadrático	0.1028	0.2602	0.0684
Cúbico	0.2596	0.3947	0.3431

Las cifras con un asterisco fueron significativas ($p < 0,05$) y con dos asteriscos altamente significativas ($p \leq 0,01$).

Cuadro 4. Análisis de varianza y contrastes ortogonales globales (PR>t) para el peso de frutos de primera (1a.), segunda (2a.) y tercera (3a.) clases.

COMPARACION	1a.	2a.	3a.
R ²	0.3638	0.9110	0.6939
COEF. VAR. (%)	238.3380	39.3921	22.5476
Repeticiones (REP)	0.3923	0.1187	0.1661
Tratamientos (TRAT)	0.1981	0.0001**	0.0001**
TTA vs. Resto	0.0189**	0.0001**	0.0001**
TTR vs. Podados	0.5526	0.4493	0.2647
TRAT. Podados			
Lineal	0.3019	0.0001**	0.8741
Cuadrático	0.2147	0.2145	0.3829
Cúbico	0.9641	0.0001**	0.2324

Las cifras con un asterisco fueron significativas ($p < 0,05$) y con dos asteriscos altamente significativas ($p \leq 0,01$).

El número de frutos difirió entre los tratamientos ($p < 0,01$) y repeticiones ($p < 0,05$) (Cuadro 2). TTA superó a todos ($p < 0,01$), mientras que TTR no superó a los podados ($p > 0,05$), y éstos no difirieron entre sí ($p > 0,05$).

La concentración de ADN viral progresó de manera casi linealmente en todos los tratamientos hasta los 30 ddt (Fig. 3C, Anexo 4). Después, a los 45 ddt, hubo tres tendencias: aumento notorio (en T30, T40 y T50), declinación leve (en TTA, TTR y T10) y aumento leve (en T20). Sin embargo, a los 60 ddt, los que habían aumentado notoriamente disminuyeron y los que habían declinado aumentaron; las excepciones fueron TTA, que se estabilizó, y T20, que continuó creciendo.

En cuanto a los minerales, no hubo diferencias entre tratamientos ($p > 0,05$), pero sí entre épocas ($p < 0,01$) (Cuadro 5, Anexos 5,6). Puesto que para el nitrógeno, potasio y cobre no las hubo, los datos se consolidaron (Figs. 7, 9). El nitrógeno, potasio y calcio predominaron, con valores de 2-5% los primeros (Fig. 7) y 0,5-2% el último (Fig. 8). Durante el experimento, el nitrógeno, calcio, cobre, zinc y manganeso mostraron altibajos, mientras que el potasio, fósforo y magnesio decrecieron desde el trasplante (Figs. 7-9); el fósforo se estabilizó a partir de 30 ddt. El TTA difirió del resto en cuanto al fósforo ($p < 0,05$), magnesio y calcio ($p < 0,01$); el TTR difirió de los tratamientos podados en cuanto al zinc ($p < 0,05$). En estos últimos para el manganeso hubo un efecto cuadrático ($p < 0,05$).

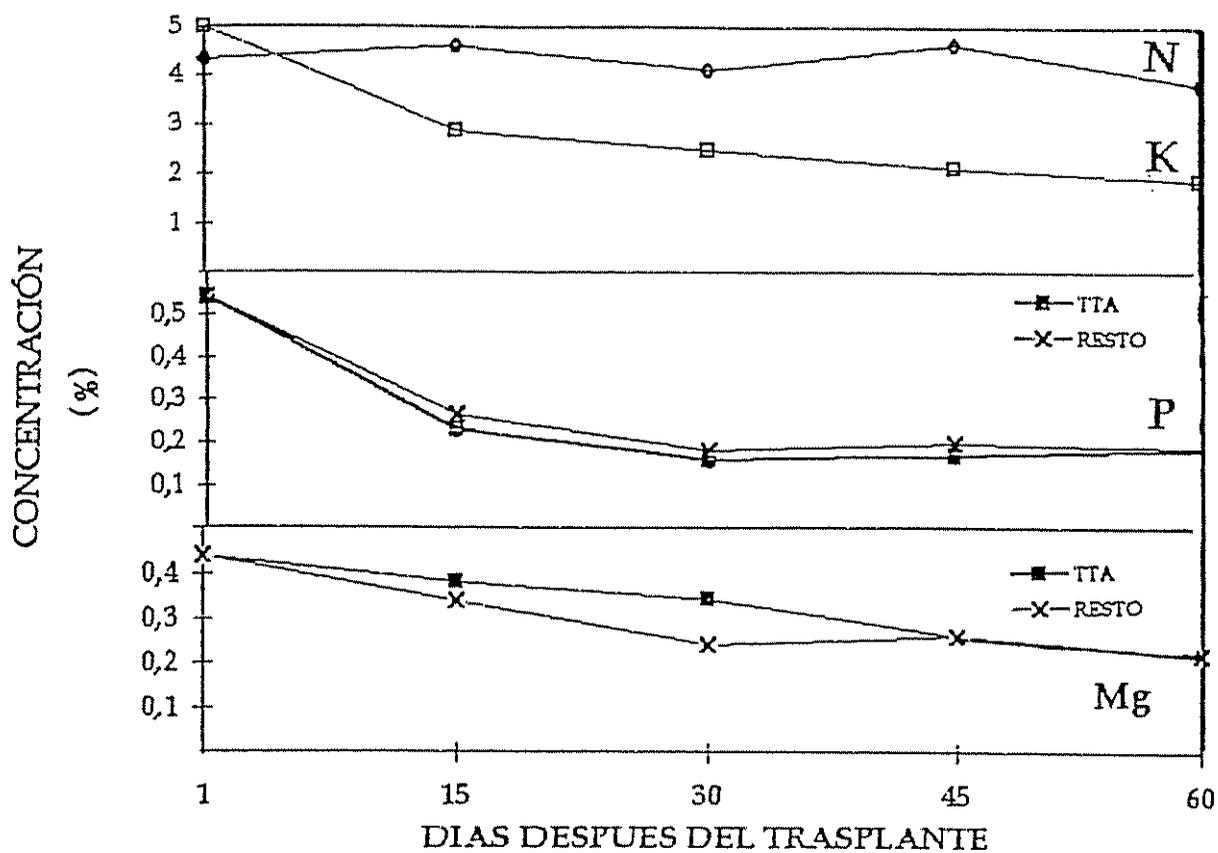


Figura 7. Concentración promedio de nitrógeno (N), potasio (K), fósforo (P) y magnesio (Mg), en el follaje del tomate. Datos consolidados de todos los tratamientos, excepto TTA.

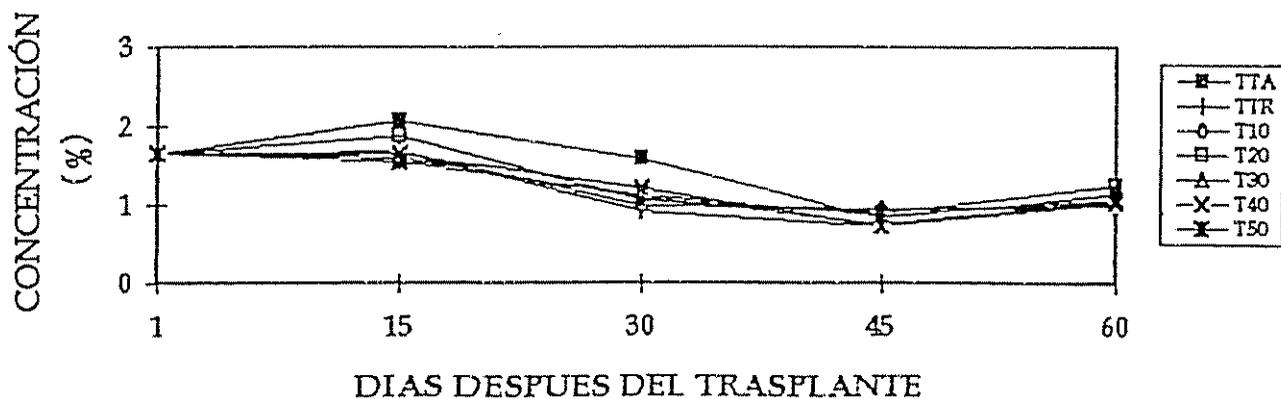


Figura 8. Concentración promedio de calcio (Ca) en el follaje del tomate, según los tratamientos.

Cuadro 5. Análisis de varianza y contrastes ortogonales globales (PR>t) para el nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), cobre (Cu), zinc (Zn) y manganeso (Mn).

Comparación	N	P	K	Ca	Mg	Cu	Zn	Mn
R ²	0.7176	0.9922	0.9919	0.9264	0.9597	0.9573	0.8709	0.9531
COEF. VAR. (%)	5.8955	5.4026	4.2862	9.4220	5.8955	9.6813	15.5110	20.5732
Época	0.0001**	0.0001**	0.0001**	0.0001**	0.0001**	0.0001**	0.0001**	0.0001**
Tratamiento (TRAT)	0.5925	0.1725	0.3159	0.0477*	0.0981	0.2588	0.2338	0.1227
TTA vs. Resto	0.1867	0.0147*	0.1193	0.0025**	0.0070**	0.1896	0.5814	0.0859
TTR vs. Podados	0.3511	0.9124	0.1403	0.3185	0.6555	0.2493	0.0366*	0.1057
TRAT. Podados								
Lineal	0.3044	0.7753	0.3771	0.5880	0.5746	0.2726	0.2539	0.9780
Cuadrático	0.8010	0.3798	0.2942	0.7473	0.1984	0.0610	0.1735	0.0364*
Cúbico	0.4453	0.3950	0.8730	0.2830	0.4416	0.9683	0.8623	0.5184

Las cifras con un asterisco fueron significativas ($p < 0,05$), y con dos asteriscos altamente significativas ($p < 0,01$)

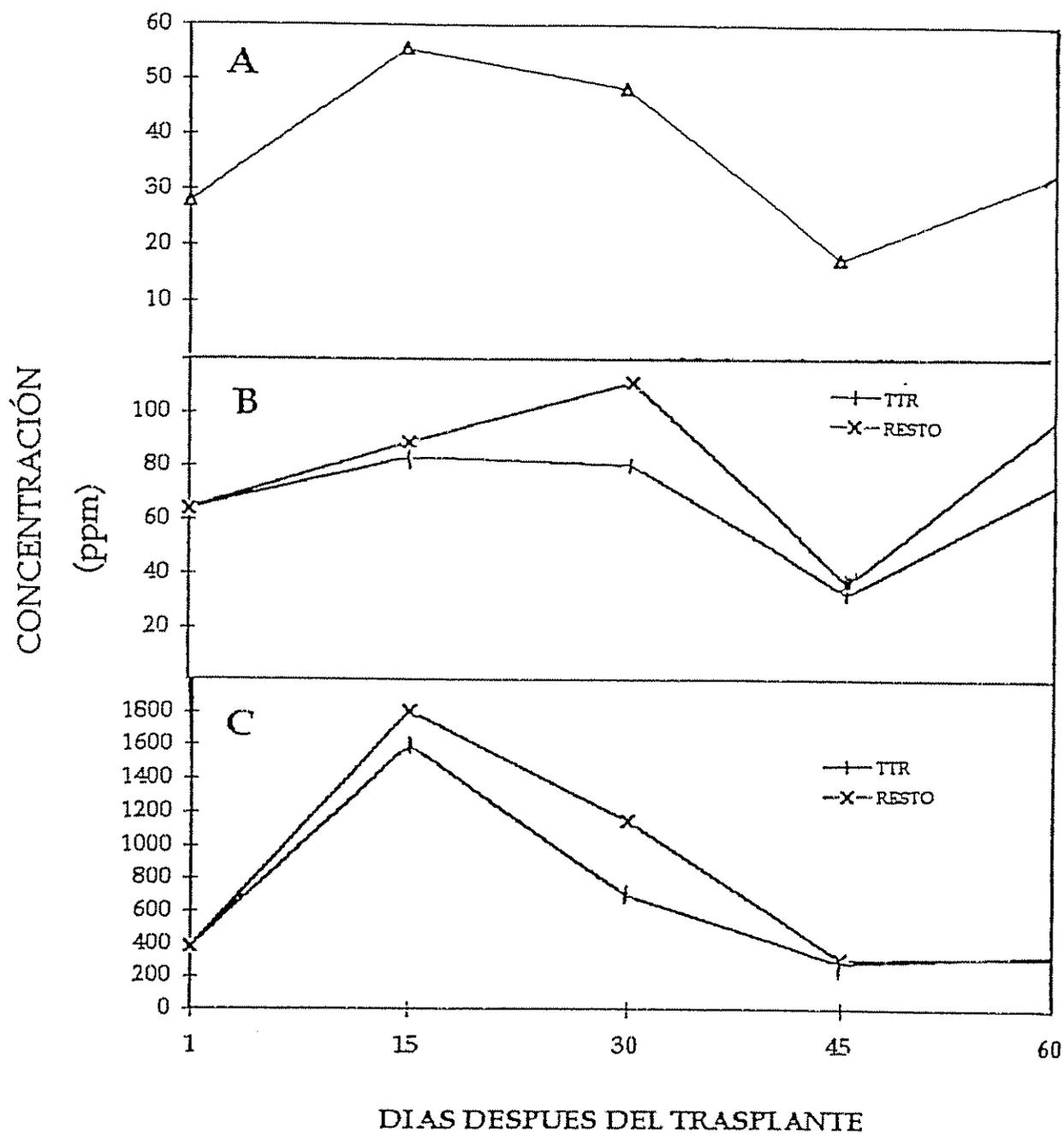


Figura 9. Concentración promedio de cobre (A), zinc (B) y manganeso (C) en el follaje de tomate. Datos consolidados de todos los tratamientos, excepto TTR.

VII. DISCUSION

Al ser trasplantadas, las plantas medían 35 cm, en promedio, con buenas características agronómicas (vigor, porte y color). A ello quizás contribuyó el microclima dentro de los túneles con malla, así como el fertilizante de liberación lenta. Debido a la malla cobertora y al sitio aislado donde se mantuvieron, se supone que no portaban virus. Estos resultados se aproximan bastante a los de Cubillo *et al.* (1994), quienes con la misma metodología obtuvieron plantas sanas, de 44 cm de altura.

En el invernadero, la severidad del mosaico amarillo del tomate en el testigo absoluto (TTA) fue menor y se retardó notablemente (Fig. 3A). En realidad, se esperaba que no fuera inoculado, lo cual sucedió accidentalmente, posiblemente porque algunos adultos de *B. tabaci* virulíferos escaparon de las jaulas de inoculación; otra posibilidad es que hayan ingresado desde un invernadero donde se mantienen colonias para experimentos, a través de la malla metálica o por la puerta, debido al constante ingreso del investigador. Durante los muestreos, en los primeros 25 ddt, se observaron ocasionalmente números cercanos a 2-3 adultos en todo el invernadero, a pesar de las aplicaciones de insecticidas. Esto confirma datos de campo que indican que con menos de un adulto por planta, en promedio, las parcelas de tomate alcanzan el 100% de virosis (Hilje *et al.* 1993, Quirós *et al.* 1994). A ello quizás también contribuyó la reducida área del invernadero.

La temperatura, humedad relativa y el riego controlado favorecieron el desarrollo de las plantas, que posiblemente fue superior al alcanzado en el campo. Después del trasplante, la temperatura aumentó de 28-29°C (Fig. 2B) y se mantuvo así durante las siguientes dos semanas. Esto quizás prolongó la

adaptación de las plantas al invernadero, al aumentar su actividad metabólica y transpiración (Bidwell 1979).

Es posible que el aumento en dicha actividad también haya favorecido al geminivirus asociado con el mosaico amarillo del tomate, que hizo a las plantas expresar los síntomas a los 14 ddt; su capacidad de translocación es alta, pues 24 h después de inoculado aparece por toda la planta (Rivas *et al.* 1995). Por ejemplo, la severidad del virus del mosaico africano de la yuca (ACMV) aumenta conforme lo hace la temperatura (Fargette *et al.* 1994).

Para casi todos los tratamientos, entre 21-28 ddt la severidad de la enfermedad se estabilizó (Fig. 3A). Esto podría atribuirse a la aplicación fraccionada y continua, semanalmente, de fertilizante al suelo y al follaje, lo que fortalece a la planta (Bertsch 1995, Kaplan y Bergman 1985). Es más importante la disponibilidad de los nutrimentos que su cantidad total (Huber 1994), lo que se logró mediante dicho fraccionamiento. Con los regímenes convencionales en Costa Rica (tres aplicaciones al follaje y al suelo, por temporada) quizás no se habrían obtenido estos resultados.

En los tratamientos podados más temprano (T10, T20 y T30), a los 35 ddt la severidad descendió. Esto quizás se debió a que los fertilizantes fueron mejor asimilados, por tener menos área foliar (20-25%) que sustentar. La poda favorece la mejor utilización de los nutrimentos y evita que se inviertan en órganos poco productivos, como los brotes laterales (Lereña 1975, Ramírez 1977, Tamaro 1981). El ascenso posterior de la severidad quizás obedeció a que la fertilización aportada fue insuficiente para mantener las plantas vigorosas y sanas, conforme se desarrollaron más. En plantas de tomate inoculadas con el mismo virus y con fertilizaciones elevadas, aquéllas soportan mejor la enfermedad (Padilla 1995).

Los tratamientos podados más tarde (T40 y T50) no mostraron el descenso de los otros. Esto posiblemente se debió a que entre los 40-50 ddt el virus tuvo mayor tiempo de desarrollarse, por lo que afectó aún más la planta. Por ello la poda no resultó tan favorable, pues además hubo deficiencia de nutrimentos a los 45 ddt (Anexos 5,6 y 7), lo cual quizás dificultó a las plantas la resistencia a la virosis.

El hecho de que el testigo relativo (TTR) fuera más drásticamente afectado desde el inicio, talvez se debió a un error subjetivo, en la apreciación de los grados de severidad. Esto lo sugieren su buena producción de biomasa, cercana al TTA (Fig. 4) y su concentración de ADN viral, que fue intermedia (Fig. 3C). Además de la necesidad de mejorar las apreciaciones del investigador, en el futuro sería deseable muestrear el tejido foliar para determinar dicha concentración cada vez que se calcule el grado de severidad.

En ningún tratamiento las plantas alcanzaron los mayores grados de severidad (4 y 5), con síntomas como el cese del crecimiento, encrespamiento severo del folaje y frutos deformes (Leal y Lastra 1987). La severidad máxima observada (grado 3), consiste en síntomas de hoja rugosa y moderada reducción del crecimiento, y se alcanzó a los 56 ddt. Posiblemente ello obedeció a la fertilización adecuada, según la curva de absorción de nutrimentos, sumada a su protección con malla durante el primer mes de desarrollo, la primera fase del período crítico del tomate a geminivirus (Acuña 1993, Franke *et al.* 1983).

Los mayores valores de altura se observaron en TTA (Fig. 3B), lo cual fue congruente con los niveles de severidad más bajos de los primeros días (Fig. 3A). Esto demuestra que al retardar la epidemia se pueden obtener plantas de tomate con buen porte, así como buenos rendimientos, como se ha documentado en el campo (Hilje y Cubillo 1995). Los tratamientos inoculados no difirieron al respecto entre sí, pero sus valores no fueron bajos. Esto quizás se debió a la

fertilización al suelo y follaje, según la curva de absorción, lo cual mejora la respuesta del tomate en altura, área foliar y rendimiento (Bertsch 1995, Cerdas 1988).

La concentración de ADN viral aparentemente fue afectada por las podas y la fertilización foliar. A los 30 ddt, los tratamientos podados temprano (T10 y T20) mostraron concentraciones intermedia y baja, respectivamente (Fig. 3C). Ello podría explicarse por la existencia de un gradiente de replicación y transporte en la planta, que le permite a los geminivirus desplazarse hacia los tejidos nuevos (Ber *et al.* 1990, Rivas *et al.* 1995). Por ser las plantas tan jóvenes, las podas eliminaron casi todo el follaje, lo cual posiblemente forzó al virus a translocarse hacia otras partes de la planta, como el tallo o raíces. A los 45 ddt en las hojas superiores (penacho) dicha concentración ya era menor, que en los demás tratamientos podados. El aumento observado a los 60 ddt quizás se debió a producción de tejido nuevo, que fue invadido por el virus.

En los tratamientos podados posteriormente (T30, T40 y T50), dicha concentración ascendió continuamente hasta los 45 ddt y luego declinó (Fig. 3C). Quizás se debió a dicho gradiente, aunado a que la poda severa también posiblemente forzó al virus a traslocarse hacia otras partes de la planta.

El TTA mostró la menor concentración, quizás porque la inoculación fue accidental, y la densidad de moscas fue inferior a cinco por planta; además, por estar libres podrían visitar varias plantas consecutivamente, repartiendo entre más plantas las partículas virales. Esto quizás le permitió a la planta nutrirse en los primeros días, en ausencia de virus. Fue hasta los 35 ddt que se observaron síntomas moderados en las hojas superiores, lo cual sugiere que la planta inicialmente acumuló fotoasimilados (aminoácidos y proteínas), los que utilizó para atenuar al geminivirus en los primeros días después de la inoculación.

En los tratamientos inoculados deliberadamente, la expresión de los primeros síntomas de clorosis se observaron a los 14 ddt; lo cual se debe a la deformación de los cloroplastos (Leal y Lastra 1987). Tal fecha equivale a los 44 dds, lo cual coincide con lo que sucede en el campo, donde los síntomas generalmente aparecen a los 40 días después de la germinación. Esto muestra que esta fecha es casi constante, independientemente de la fecha de inoculación del virus, y sugiere que más bien está determinada por la actividad metabólica de la planta (Hilje *et al.* 1993).

Las variaciones de la biomasa entre repeticiones, posiblemente se debieron al sustrato utilizado, que quizás no fue homogéneo en todas ellas, además del estrés causado por las podas, que quizás influyó en cada tratamiento.

Ambos testigos (TTA y TTR) mostraron la mayor biomasa (Fig. 4), ya que no fueron podados y su desarrollo no se interrumpió, por lo que quizás utilizaron adecuadamente los fotoasimilados y nutrimentos en la producción de tejido vegetal. Las etapas fenológicas en las que hay mayor producción de biomasa son las de desarrollo vegetativo y fructificación (Cerdas 1988). El contraste entre TTA y los demás tratamientos se puede explicar porque en los últimos el virus se inoculó primero, por lo que tuvo mayor tiempo para alterar procesos vitales de las plantas, reduciendo el contenido de proteínas, clorofila, azúcares, almidón y la tasa neta de fotosíntesis e incrementando la respiración celular (Leal y Lastra 1984); además, reduciendo el crecimiento, al disminuir algunas hormonas reguladoras del crecimiento, lo cual conduce a la reducción del área foliar, enanismo y epinastia (Agrios 1988, Hull 1987, Leal y Lastra 1984).

En los tratamientos podados, la biomasa total fue menor que en los no podados, posiblemente debido al estrés que provoca la poda, al retardar momentáneamente el desarrollo vegetativo (Lereña 1975). Los más afectados fueron los podados más tardíamente (T40 y T50), posiblemente porque las podas

realizadas durante la floración, en el tomate, afectan negativamente la producción (Yague 1988). Destacó T20, pues la poda se realizó cerca del inicio de la etapa de desarrollo vegetativo, caracterizada por el rápido crecimiento y gran incremento de materia seca porque el sistema radical está bien constituido, favoreciendo la nutrición (CATIE 1990, Yague 1988).

Aunque las plantas podadas, debido a su baja demanda foliar, aprovechan mejor los nutrimentos y los utilizan para formar brotes nuevos (Yague 1988), T10 no se ajustó a esto, y no superó a T20 en biomasa (Fig. 4). Es posible que en el momento de la poda su sistema radical no estuviera bien desarrollado, a lo cual se sumaron el estrés de la poda, la alta temperatura en el invernadero después del trasplante y el inicio de la infección viral. Ello quizás provocó que la planta no pudiera recuperarse durante su desarrollo vegetativo. Ello también se reflejó en su menor altura (Fig. 3B, Anexo 1). No obstante, la poda mejoró el rendimiento (Fig. 5), y ese es el propósito de su uso.

Los frutos fueron las estructuras que acumularon más biomasa. Puesto que aparecieron desde 40 ddt, quizás influenciaron mucho la producción de biomasa en T30, T40 y T50 (Fig. 4). Su baja biomasa podría deberse a que en la etapa de fructificación la planta invierte gran cantidad de fotoasimilados en formarlos (por lo que se incrementa su peso seco) y se frena el desarrollo vegetativo. La menor biomasa obtenida en T50 se explica porque la poda se efectuó muy cerca del período de maduración de los frutos (60 ddt), por lo que hubo gran demanda de fotoasimilados hacia ellos, cesando el desarrollo vegetativo; además, el virus tuvo mucho tiempo para multiplicarse y afectar seriamente a las plantas. Durante dicha etapa, el crecimiento de la planta disminuye y tiende a estabilizarse (Demolon 1972), por lo que quizás ella transloca sus reservas e inicia la senescencia.

La producción de biomasa en frutos fue aceptable, posiblemente por la constante fertilización aportada. En cambio, la de raíces fue baja, quizás porque el virus se alojó más en ellas después de cada poda. Es posible que la dosis de fertilización al suelo utilizada fuera insuficiente para producir un sistema radical vigoroso. En un experimento con excesos de fertilización en plantas de tomate infestadas con geminivirus, hubo alta producción de biomasa de hojas, tallo, raíz y frutos (Padilla 1995).

En general, las plantas se desarrollaron bien, debido a las condiciones climáticas favorables dentro del invernadero, que causaron poco o ningún estrés. Ello hizo que los rendimientos fueran aceptables, a pesar de la presencia del virus. Ningún tratamiento superó al promedio nacional, de 0,75 kg/planta (SEPSA 1988), y hubo predominio de frutos de 3a. calidad, con muy pocos de 1a. calidad (Figs. 5, 6). En el testigo absoluto (TTA), con el mayor valor, fue de 0,722 kg, en promedio.

Estos valores fueron inferiores a lo esperado, por el ataque severo de maya (*Pseudomonas solanacearum*), que afectó a plantas previamente debilitadas por el virus; dicha bacteria afecta y mata principalmente a plantas mal nutridas o debilitadas (Agrios 1988). Ella podría haber impedido el llenado de los frutos (Agrios 1988). La infección posiblemente se debió al arrastre de la bacteria por el agua de lluvia acumulada en un sector del invernadero, de donde posteriormente se diseminó más al podar. Las plantas muertas por maya fueron apenas dos, quizás porque las aplicaciones fraccionadas del fertilizante permitieron a las demás soportar el daño del virus y de *P. solanacearum*.

Las variaciones en los niveles de nutrimentos (Figs. 7, 8, 9) se explican por los requerimientos diferenciales de éstos durante el desarrollo del cultivo. Por ejemplo, a mediados de la floración (45 ddt) hubo deficiencia (Anexo 7) de

macroelementos (N, P, K, Ca y Mg), lo cual quizás se debió a que la planta los utiliza principalmente en la formación de flores y frutos (Tamaro 1981).

El nitrógeno, necesario especialmente para el desarrollo vegetativo de la planta (Tamaro 1981), fue el único detectado en niveles intermedios, tal vez porque el sustrato contenía niveles adecuados (0,35%), y porque la dosis utilizada (equivalente a 400 kg/ha) fue relativamente alta. Su máximo valor (4,64%) se alcanzó a los 45 ddt. Como es muy móvil, y puede ser absorbido y translocado en apenas 0,5-2 h (Bertsch 1995), su posterior descenso quizás se debió a su movilización para la formación de flores y frutos (Gargantini y García 1963). Su poca variación (Fig. 7) podría deberse a que la cantidad disponible fue suficiente tanto para el desarrollo vegetativo normal de la planta, así como para el virus; este elemento forma parte importante de la molécula de las proteínas de la planta, usadas por el virus para replicarse (Fraser 1987, Watson *et al.* 1979).

La menor concentración de ADN viral observada a los 45 ddt en los tratamientos podados temprano (T10 y T20), posiblemente obedeció a que al podar se evitó que los nutrientes se consumieran en formar brotes continuamente, los cuales no alcanzan buen desarrollo; además, a que se redujo el inóculo viral dentro de la planta. También, probablemente promovió la movilización del nitrógeno y otros elementos hacia el estrato superior de la planta (penacho), lo cual ayudó a atenuar la severidad de la enfermedad.

El fósforo es muy móvil, y muy importante en la formación del sistema radical y la maduración de los frutos (Gargantini y García 1963, Tamaro 1981). Mostró deficiencia a los 45 ddt (Anexo 7), lo cual posiblemente se debió a su escasez en el sustrato (4,2%), que tal vez no se pudo compensar con la fertilización posterior. El pobre sistema radical mostrado por las plantas en todos los tratamientos, posiblemente se debió a que nunca se alcanzaron niveles satisfactorios de este elemento; a su vez, ello quizás dificultó la absorción y

transporte de otros nutrimentos. El fósforo es fundamental para la síntesis y multiplicación de los virus (Fraser 1987, Seaker *et al.* 1982). Por ejemplo, Spencer (1935) logró reducir la severidad del virus del mosaico amarillo del tomate (TYM) con aplicaciones de fósforo. Padilla (1995), en un experimento paralelo al presente trabajo, logró reducir la severidad del ToYMV con dosis altas de fósforo (1800 kg/ha).

A los 45 ddt, el magnesio y potasio mostraron niveles bajos pero normales (Anexo 5 y 7), de 0,26 y 2,12%, respectivamente. La declinación progresiva del magnesio quizás se debió a que forma parte de la molécula de clorofila, y ésta se reduce con la infección por geminivirus, que deforman los cloroplastos (Hull 1987, Leal y Lastra 1984). Este elemento es muy poco móvil (Bertsch 1995) y su concentración se reduce en el follaje al transferirse hacia las flores y frutos (Casseres 1981, Cerdas 1988).

La disminución progresiva del potasio quizás obedeció a que la dosis utilizada (equivalente a 300 kg/ha) posiblemente fue muy baja, tratándose de plantas infectadas con virus. Puesto que es importante en la floración y formación de frutos (Tamaro 1981), su bajo nivel quizás se explica por su gran demanda y translocación hacia dichas estructuras. Además, por ser utilizado en múltiples procesos vitales, como la respiración, fotosíntesis, síntesis de clorofila y contenido de agua en el follaje (Salisbury y Ross 1991, Windsor y Adams 1987), las cantidades empleadas quizás fueron insuficientes para mantener en mejor condición a la planta (Kaplan y Bergman 1985).

El calcio fue el único elemento en que difirieron todos los tratamientos, pero todos mostraron el mismo patrón. A los 45 ddt hubo valores bajos y deficientes (Anexo 6) en todos. Ello quizás se debió a que, por formar parte importante de la pared celular, su contenido disminuyó en las hojas al ser

infectadas por el virus, ya que éstos afectan la permeabilidad de la célula y, en casos severos, su muerte (Lastra 1987, Salisbury 1991).

Los elementos menores (Cu, Zn y Mn) fueron los únicos que mostraron niveles adecuados (Anexo 5). Por tanto, quizás contribuyeron a atenuar la severidad del mosaico amarillo del tomate, pues participan en la defensa de la planta; intervienen en la función de los tejidos, expresión de la enfermedad, modifican la virulencia y capacidad de los patógenos para sobrevivir (Bidwell 1978, Kaplan y Bergman 1985). La moderada severidad observada (grado 3) podría atribuirse parcialmente a su presencia. En cantidades suficientes, el manganeso contribuye a que la respiración sea eficiente; el cobre forma parte de la plastocianina, proteína importante en la fotosíntesis; el zinc participa en la síntesis del ácido indol-3-acético (IAA), auxina natural de las plantas (Bidwell 1978). Frías *et al.* (1974) y Zaher (1985), redujeron los daños causados por TYLCV en tomate con concentraciones óptimas de micronutrientes.

En síntesis, las diferencias (efecto cúbico) entre los tratamientos podados indican que si las podas (más el fertilizante foliar) se hacen muy temprano o tarde, los rendimientos se reducen mucho. Sin embargo, si se hace a los 20 ddt se puede contrarrestar mejor la infección viral. Esta fecha, equivalente a 50 días después de la siembra, se encuentra dentro del período crítico del tomate a geminivirus (Acuña 1993, Franke *et al.* 1983), cuando la planta está en la etapa de mayor actividad fisiológica o de desarrollo vegetativo. Quizás responde a la poda utilizando mejor sus nutrimentos, lo cual atenúa la enfermedad, además de que la poda posiblemente reduce el inóculo viral. Por la corta edad de la planta, la poda a los 20 ddt se asemeja a la deshija efectuada por los agricultores normalmente, entre 15-25 ddt (45-55 dds), aunque no la combinan con la fertilización foliar inmediatamente. Es posible que ella por sí sola contribuya a atenuar el efecto del mosaico amarillo del tomate, sin que los agricultores se percaten de su importancia.

VIII. CONCLUSION

- La poda, seguida por la aplicación de fertilizante foliar, a los 20 días después del trasplante, atenuó la severidad del mosaico amarillo del tomate.

-No hubo relación entre la severidad de la enfermedad y la concentración de ADN viral.

IX. RECOMENDACIONES

- Evaluar el efecto de las podas más fertilizante foliar a intervalos más cortos, entre 5 y 30 días después del trasplante.

- En dichos experimentos, incluir dosis altas de fertilizante al suelo y fraccionarlas según la curva de absorción del cultivo.

- Establecer un método que excluya absolutamente a *B. tabaci* de los invernaderos, y que no afecte el desarrollo de las plantas de tomate, para contar con testigos verdaderamente contrastantes con los tratamientos evaluados.

- Redefinir la escala de severidad empleada y practicar su empleo antes de iniciar futuros experimentos, para reducir al máximo su subjetividad.

- Aumentar, dentro de las posibilidades presupuestarias, el número de muestras para los análisis de nutrimentos foliares y concentración de ADN viral.

X. BIBLIOGRAFIA

- ABDELDAFFIE, E. Y. A. ; ELHAG, E. A.; BASHIR, N. H. H. 1987. Resistance in the cotton whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.) to insecticides recently introduced into Sudan Gezira. *Tropical Pest Management* 33(4):283-286.
- ACUÑA, W. 1993. Efecto de la infección de un geminivirus sobre el rendimiento del tomate (*Lycopersicon esculentum*) a diferentes estadios de desarrollo de la planta. Tesis Ing. Agr. Turrialba, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. Sede Universitaria Regional del Atlántico. 73 p.
- AGRIOS, G. N. 1988. Fitopatología. 5 ed. México, Limusa. 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
- 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.
- 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.
- _____; LASTRA, R. 1985. Whiteflies population and its impact on the incidence of tomato yellow virus in Venezuela. *Phytopath. Z.* 112:363-366
- ANDERLINI, R. 1970. El cultivo del tomate. 2 ed. Editorial Mundi Prensa, Madrid, España. 207 p.
- ARIAS R.; HILJE, L. 1993a. Actividad diaria de los adultos de *Bemisia tabaci* (Gennadius) en el tomate y hospedantes alternos del insectos. *Manejo Integrado de plagas (Costa Rica)* 28:20-25.
- ARIAS R.; HILJE, L. 1993b. Uso del frijol como cultivo trampa y de 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 M.; ZOEBSCH, T. J. 1992. Control de mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en tomate con insecticidas biológicos y químicos. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 24-25:1-7.
- BARCELO, J.; NICOLAS, G.; SABATER, B.; SANCHEZ, R. 1983. Fisiología vegetal 2 ed. Madrid, España. Piramide. 813 p.
- 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
- 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, J. S. 1966. Symptoms, yield, leaf mineral composition of greenhouse tomatoes as affected by soil moisture and tobacco mosaic virus. Acta Hort. 4:96-99.
- BERLINGER, M.J.; DAHAN, R. 1989. *Bemisia tabaci*, the vector of tomato yellow leaf curl virus: A challenge to Southern European entomologist. In Integrated Pest Management Protected Vegetable Crops. Proceedings of the CEC/IOBC Group Meeting/Cabrils. 27-29 May 1987. Eds. Cavalloro and C. Pelerents. CEC/ A. A. Balkema/Rotterdam/Brookfield. p. 67-71.
- BERTSCH, F. 1980. Análisis del crecimiento y la nutrición vegetal. Turrialba, C.R., CATIE. 23 p.
- _____; 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, C. R., Programa Universidad de Costa Rica/ CATIE. 23 p.
- BIDWELL, R. G. 1979. Fisiología vegetal 2 ed. Ed. A. G.T. Mexico. 783 p.
- BINK-MOENEN, R.; MOUND, L.A. 1990. Whiteflies: Diversity, biosystematics and evolutionary patterns. In Whiteflies: Their bionomics, pest status and management. Ed. D. Gerling . U.K., Intercept. p. 1-11.

- BIRD, J. ; MARAMOROSH, K. 1978. Viruses and virus disease associated with whiteflies. *Adv. Virus Res.* 22:55-110.
- BLACK, C. A. 1968. Relación suelo-planta. 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. *Plant Disease* 66(3):266-270.
- 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
- BORBON, O. 1983. Poda y deshoja en tomate (*Lycopersicon esculentum* M.) c. v. Tropic. Tesis Ing. Agr. Heredia, C. R. , Universidad Nacional. 88 p.
- BROWN, J. K.; 1994. Current status of *Bemisia tabaci* as a plant pest and virus vector in agroecosystems worldwide. *FAO. Plant Protection Bull.* 42(1-2): 3-31.
- _____ ; 1993. Evaluación crítica sobre los biotipos de moscas blancas en América, de 1989-1992. *In* Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América central y el Caribe. Ed. L. Hilje y O. Arboleda. CATIE (C. R.). Serie Técnica. Informe Técnico No. 205. p. 1-9.
- _____ ; BIRD, J. 1992. Whitefly- transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean basin. *Plant Disease* 76 (3): 220-225.
- _____ ; COSTA, H. S. ; LAEMMLEN, F. 1992. First incidence of whitefly-associated squash silverleaf disorder in Arizona, and of white streaking disorder of *Brassica* species in Arizona and California. *Plant Disease* 76: 426.
- _____ ; 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 an the cotton whitefly with an annotated bibliography. Ed. M. J. W. Cock. Ascot, UK. FAO-CAB-IICA. p. 43-50.
- BUSH, G. L. 1993. Biotipos. In *Bemisia tabaci*; Biotype or species complex. Memoria II Taller Latinoamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas y Geminivirus. Managua, Nicaragua. p. 17-24.
- BUTLER, G.; HENNEBERRY,T.; WILSON, F. 1986. *Bemisia tabaci* (Homoptera : Aleyrodidae) on cotton: Adult activity and cultivar oviposition preference. *Jour. Econ. Entomol.* 79(2):350-354.
- BYRNE, D.; BELLOWS, T. S. 1991. Whitefly biology. *Ann. Rev. Entomol.* 36:431-457.
- 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.* Comp. L. Hilje . CATIE. Serie Técnica. Informe Técnico No. 237. 73 p.
- CASSERES, E. 1981. Producción de hortalizas. 3 ed. San José, Costa Rica, IICA. 205 p.
- CATIE. 1990. Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo del tomate. 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. 1988. Análisis del crecimiento y la absorción de nutrimentos en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en Alajuela. Tesis Lic. Agr. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. Escuela de Fitotecnia. 70 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. Ed. M. J. W. Cock Ascot, UK. FAO- CAB-IICA. p. 59-61.

- COHEN, S. ; BERLINGER, M. 1986. Transmission and cultural control of whitefly-borne viruses. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 17(1-2): 89-97.
- _____ ; MELAMED-MADJAR, V. 1978. Prevention by soil mulching of the spread of tomato yellow leaf curl virus transmitted by *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Israel. *Bull. ent. Res.* 68:465-470.
- _____ ; NITZANY, F. 1966. Transmission and host range of the tomato yellow leaf curl virus. *Phytopathology* 56:1127-1131.
- _____ ; 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.
- 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: 505-510.
- COSTA, A. S. 1969. Whiteflies as virus vectors. *In* *Viruses, vectors and vegetation*. Ed. K. Maramorosch. Interscience Publ. New York. p. 95-119.
- COSTA RICA. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA (MAG) 1993. Manual de recomendaciones. Cultivos agrícolas de Costa Rica. San José. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Boletín Técnico No 62. 234 p.
- CUBILLO, D.; HILJE, L.; CHACON, A. 1994. Producción de plántulas de tomate sin geminivirus transmitidos por la mosca blanca (*Bemisia tabaci*). *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 34: 23-27.
- DAVIES, J. N. 1964. Effect of nitrogen, phosphorus and potassium fertilisers on the non-volatile organic acids of tomato fruit. *J. Sci. Fd. Agric.* 15: 665-673.
- _____ ; WINDSOR, G. W. 1967. Effect of nitrogen, phosphorus, potassium, magnesium and liming on the composition of tomato fruit. *J. Sci. Fd. Agric.* 18: 459-466.

- 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.
- 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. Econ. Entomol. 83(5):1665-1670
- EICHELKRAUT, K.; CARDONA, C. 1989. Biología, cría masal y aspectos ecológicos de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera : Aleyrodidae), como plaga del frijol común. Turrialba (Costa Rica) 39(1) : 55-62.
- 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 Plagas (C. R.) 27:35-41.
- FRANKE, G.; VAN BALEN, L.; DEBROT, E. 1983. Efecto de la época de infección por el mosaico amarillo sobre el rendimiento del tomate. Revista de la Facultad de Agronomía (Venezuela) 6(2):741-743.
- FRANSEN, J. J. 1990. Natural enemies of whiteflies: Fungi. In *Whiteflies: Their bionomics, pest status and management*. Ed. D. Gerling. Intercept, Andover UK. p. 187-210.
- FRASER, R. S. S. 1987. Biochemistry of virus-infected plants. Letchworth, Hertfordshire, England. Research Studies Press. 259 p.
- FRIES, R. E. ; BERGMAN E. L.; BOYLE J. S. 1974. Bean yellow mosaic and tomato ringspot virus influence on growth and elemental content of dark red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*). J. Amer. Soc. Hort Sci. 99: 518-523.
- FRY, W. E. 1982. Principles of plant disease management. Orlando, Florida. Academic Press. 242 p.
- GALLEGOS, H. ; DUTARI, M. 1980. El cultivo del tomate en el Valle de Culiacán para consumo fresco. Culiacán, Sinaloa, México. 182 p.

- GERLING, D.; 1990. Natural enemies of whiteflies : Predators and parasitoids. In Whiteflies: Their bionomics, pest status and management. Ed. D. Gerling. Andover UK, Intercept. p. 147-185.
- _____; 1992. Approaches to the biological control of whiteflies. Florida Entomologist 75(4): 446-456.
- _____; HOROWITZ, A. R. ; BAUMGAERTNER, J. 1986. Autecology 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. ; STUSSI-GARAUD, C. 1990. The movement protein of some plant viruses. Springer - Verlag Berlin . Vol. 41 p. 207-231.
- GONZALEZ, R. A. 1970. Efecto de diferentes sistemas de podas sobre el rendimiento y calidad del fruto del tomate del Valle de Culiacán. 3 ed. México. 24 p.
- GOODMAN, R. N. ; KIRALY, Z. ; ZAITLIN, M. 1967. The biochemistry and physiology of infectious plant disease. Princenton, New Jersey, D. Van Nostrand Company 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. 1986. Host plants. In *Bemisia tabaci*. A literature survey. Ed. M.J.W. Cock. Ascot, U. K. , FAO CAB. p. 17-25.
- GREEN, S.; KALLOO, G. 1994. Leaf curl and yellowing virus of pepper and tomato: An overview. Asian Vegetable Research and Development Center, Taiwan. Technical Bulletin No. 21. p. 33-35.
- HALL, R. A. 1993. The use of pathogens to control whiteflies in Europe and the tropics: Possibilities for integrated control. In Memoria II Taller Latinoamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas y Geminivirus. Nicaragua. p. 35-48.

- HARRISON, B. D. 1985. Advances in geminivirus research. *Ann. Rev. Phytopathology* 23:55-82.
- HELTON, A. W. 1961. Behaviour of western virus in well-rogued peach and cherry orchards. *Phytopathology* 51: 7- 488.
- 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.
- _____; 1995. Aspectos bioecológicos de *Bemisia tabaci* en Mesoamérica. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 30:46-54
- _____; 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. 1995. Logros en el manejo integrado del complejo *B. tabaci*- geminivirus en tomate, mediante practicas agricolas. *In*. *Memorias II Semana Científica*. 4-6
- _____; CUBILLO, D.; SEGURA, L. 1993. Observaciones ecológicas sobre la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 30: 24-29.
- HUBER, D. M. 1980. The role of mineral nutrition in defense. *In* *Plant Disease*. Ed. Horsfall Cowling. New York, Academic Press. v. 5, p. 381-406.
- _____; 1994. The influence of mineral nutrition on vegetable diseases. *Hort. Bras. (Bra.)* 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 Nov. Coronado, C.R.). 250 p.
- IOANNOU, N. 1985a. Yellow leaf curl and other virus diseases of tomato in Cyprus. *Plant Pathology* 34:428-434
- IOANNOU, N. 1985b. 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.

- KAPLAN, R. C. ; BERGMAN, E. L. 1985. Virus infection and nutrient elemental content of the host plant. A review. *Soil Sci. Plant Anal.* 16: 439-465.
- 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, Overseas Development Administration. 182 p.
- KRANZ, J.; SCHMUTTERER, H.; KOCH, W. 1982. Enfermedades, plagas y malezas de los cultivos tropicales. Berlín, Paul Parey . 722 p.
- LASTRA, R. 1987. Algunas virosis de importancia agrícola en la América tropical. *In* Curso de áfidos. Ed. J. Pinochet and D. Quintero. CATIE. Serie Técnica. Informe Técnico No. 125. p. 63-69.
- _____ ; 1993. Los geminivirus: un grupo de fitovirus con características especiales. *In* Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. Ed. L. Hilje y O. Arboleda. CATIE. Serie Técnica. Informe técnico N° 205. 66 p.
- 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
- LEREÑA, G. A. 1975. *Enciclopedia de la huerta*. 3 ed. Buenos Aires, Argentina, Mundo Técnico. p. 347-352.
- LITTLE, T. M. ; HILLS, F. J. 1983. *Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura*. México D.F. Edit. Trillas. 270 p.
- LOPEZ- AVILA, A. 1992. Taxonomy and biology. *In Bemisia tabaci :A literature survey on the cotton whitefly with an annotated bibliography* .(ed.) W. M. J. Cock . FAO - CAB - IICA. Ascot, UK. p. 3-11.
- LOPEZ, F.; CHAN, G. 1974. Efecto de la densidad de población y métodos de poda, sobre el rendimiento y calidad del tomate en espaldera. *Agricultura Técnica en México* 3: 340-345.
- 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. Ed. C. N. Roistacher. Roma, FAO. IOCV-FAO. p. 217-232.

- MADDEN, L. V.; CAMPBELL, C. L. 1986. Description of virus disease epidemics in time and space. In Plant virus epidemics. Ed. G. D. McLean, R. D. Garret W. G. Ruesink. New York, Academic Press. p. 273-293.
- MALAVOLTA, E. 1989. Avaliacao do estado nutricional das plantas: principios e aplicacoes. Piracicaba, Brasil. Asociacao Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato. 201 p.
- MARTIN, C. 1976. Nutrition and virus diseases of plants. In Fertilizer use and plant health. International Potash Institute. Bern, Switzerland. p. 193-200.
- MIRANDA, G. R. ; GUERRERO, J. J. 1994. Horticultura orgánica: Una guía basada en la experiencia en Laguna de Alfaro Ruiz. San José, Costa Rica. 76 p.
- MORALES, F. J. 1993. Los geminivirus transmitidos por mosca blanca. In Taller Latinoamericano y del Caribe sobre Moscas blancas y Geminivirus. II memorias , Managua, Nicaragua. p. 9-24.
- MORTENSEN, E. ; BULLARD, E. 1967. Horticultura tropical y sub tropical. México, Editorial Pax. p. 167-172.
- MOUND, L. A. 1983. Biology and identity of whitefly vectors of plants pathogens. In Plant virus epidemiology. Ed. R. T. Plumb; J. M. Tgresh. London. Blackwell Scientific Public. p. 305-313.
- _____ ; 1984. Zoogeographical distribution of whiteflies. In Current topics in vector research. Ed. K.F. Harris. New York. Praeger Publishers. v-2, 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): 1155 (Abstract).
- ORLOB, G. B. ; ARNY, D. C. 1961. Some metabolic changes accompanying infection by barley yellow dwarf virus. *Phytopath.* 51:768-775.
- PADILLA, M. R. 1995. Reducción de la severidad del mosaico amarillo del tomate mediante fertilización al suelo. Tesis M.Sc. Turrialba, C. R. CATIE. 89 p.
- PALTI, J. 1981. Cultural practices and infectious crop diseases. Berlin. Springer-Verlag. 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.; BOIS, D.; SERRA, C.; CONCEPCION, S. 1994. Tomato yellow leaf curl-like geminivirus detected in Dominican Republic. (Abstr.) Phytopathology 84(10).
- PONTI, O. M. B. DE; ROMANOW, L. R.; BELINGER, M. J. 1990. Whitefly-plant relationships: Plant resistance. In Whiteflies: Their bionomics, pest status and management. Ed. D. Gerling . Intercept, Andover UK. p 91-106.
- 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.
- 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, F. 1977. Sistemas de poda en tomate (*Lycopersicon esculentum*) c. v.Tropic. Tesis Ing. Agr. Heredia, Costa Rica. Universidad Nacional 53 p.
- RAMIREZ, J. D. 1993. El cultivo del tomate. Guatemala, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación. 142 p.
- RAMIREZ, P.; MAXWELL, D. 1995. Geminivirus transmitidos por moscas blancas. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 36:22-27.
- RIVAS, G. ; RAMIREZ, P.; CUBILLO, D.; HILJE, L. 1995. Traslocación y cuantificación del ADN viral del geminivirus asociado con el mosaico amarillo del tomate. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 38 (En prensa)
- _____ ; RAMIREZ, P.; CUBILLO, D.; HILJE, L. 1995. Detección de virus en plantas silvestres asociadas con el tomate y chile dulce en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 38 (En prensa).

- _____; LASTRA, R.; HILJE, L. 1994b. Retardo de la virosis por *Bemisia tabaci* (Gennadius) en tomate mediante semilleros cubiertos. *Manejo Integrado de Plagas* (Costa Rica) 31: 12-16.
- 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, 1988. 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.
- SABORIO, M. 1987. Distancia de siembra y dosis crecientes de N y P en plantas de tomate cultivadas bajo techo plástico transparente. Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. 81 p.
- _____; 1994. Control fitogenético del complejo mosca blanca-virus. *Manejo Integrado de Plagas* (Costa Rica) 34:36-40.
- SALAS, J.; MENDOZA, O.; ALVAREZ, C.; PARRA, A. 1993. Biología de la mosca blanca de la batata *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera : Aleyrodidae). *In* : Congreso Latinoamericano (5) y Congreso Venezolano de Entomología. (13, Porlamar, Venezuela). Résumenes. p. 9-10.
- SALAZAR, F. 1990. Detección de viroides y virus con técnicas de ADN recombinantes. *In* Cultivos de tejidos en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones. Eds. M. W. Roca; y Mroginski. Cali, Colombia, CIAT. p. 877-885.
- _____; QUERCI, M. 1992. Detection of viroids and viruses by nucleic acid probes. *In* Techniques for the rapid detection of plant pathogens. Eds. J. M. Duncan; L. Torrance. Blackwell Scientific Publ. p. 129-144.
- SALGUERO, V. 1993. Perspectivas para el manejo mosca blanca-virus. *In* Las moscas blancas en América Central y el Caribe. Eds. L. Hilje O. Arboleda. CATIE (C.R.) Serie Técnica. Informe Técnico No. 205. p. 20-26.
- SALISBURY, F.; ROSS, C. 1991. Plant physiology. 4 ed. Belmont, California Wadsworth Publ. Co. 679 p.

- SAS INSTITUTE INC. 1985. SAS User's 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.
- SHARAF, N. S. 1986. Chemical control of *Bemisia tabaci*. Agric. Ecosystem Environ. 17: 111-127.
- SMITH, K. M. 1972. A textbook of plant virus diseases. 3 ed. N. Y. Academic Press. 684 p.
- SPENCER, E. L. 1935. Influence of phosphorus and potassium supply on host susceptibility to yellow tobacco mosaic infection. Phytopathology 25: 493-502.
- STANLEY, J. 1985. The molecular biology of geminiviruses. Advances in Virus Research 30: 139-177.
- STANLEY, W. M. 1937. Chemical studies on the virus of tobacco mosaic. The activity and yield of virus protein from plants diseased for different periods of time. J. Biol. Chem. 121: 205-217.
- SCHUSTER, D. J.; KRING, J. B.; PRICE, J. F. 1991. Association of the sweetpotato whitefly with a silverleaf disorder of squash. HortScience 26(2):155-156.
- _____ ; EVERETT, P. H.; KRING, J.B.; PRICE, J. F. 1989. Integrated mangement of the sweetpotato whitefly on commercial tomato. Florida, University of Florida. 22 p.
- _____ ; KRING, J. B.; MULLER, T. F.; PRICE, J. F. 1990. Relationship of the sweetpotato whitefly to a new tomato fruit disorder in Florida. HortScience 25(12): 1618-1620.
- TAMARO, D. 1981. Horticultura. México, Gili, p. 371-392.
- TRABOULSI, R. 1994. *Bemisia tabaci*: A report on its pest status with particular reference to the Near East. FAO Plant Protection Bulletin N°42 (1-2) : 33-57.
- TOSI, J. A. 1989. Mapa ecológico de la República de Costa Rica, según la clasificación de zonas de vida del mundo de L. R. Holdridge. San José, Costa Rica, Centro Científico Tropical.

- UZCATEGUI, R.; LASTRA, R. 1978. Transmission and physical properties of the causal agent of mosaic yellow tomato. *American Phytopathological Society* 68:985-988.
- VALLEJO, F. A. ; OROZCO, L. D. ; VICTORIA R. D. 1975. Respuestas del tomate a diferentes sistemas de poda. Resúmenes VII seminario. Bogotá, Colombia. p. 24-25.
- VAN LENTEREN, J. C. ; NOLDUS, L. P. J. J. 1990. Whitefly-plant relationships: Behavioural and ecological aspects. In Whiteflies: Their bionomics, pest status and management. Ed. D. Gerling. Great Britain, Intercept. p. 211-226.
- WARD, G. M. 1967. Growth and nutrient absorption greenhouse tomato and cucumber. *Proc. Ameri. Soc. Horti. Science* 90: 335-341.
- WILCOX, G. E. ; LANGSTON, R. 1960. Effect of starter fertilization on early growth and nutrition of direct-seed and transplanted tomatoes. *Proc. Amer. Soci. Horti. Science* 75: 584-529
- WINDSOR, G.; ADAMS, P. 1987. Diagnosis of mineral disorders in plants. Eds. P. Fiske, A. Smith. v-3, 168 p.
- YAGUE, J. L. 1988. *Botanica Agrícola*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, servicios de Extension Agraria. 2 ed. Editorial Mundi-Prensa, Madrid, España. 261 p.
- ZAHER, N. A. M. 1985. Response of tomato yellow leaf curl virus diseased plants to spraying with some microelements. *Egypt. J. Phytopathol.* 17 (1): 73-82.
- ZAITLIN, M. ; HULL, R. 1987. Plant virus-host interactions. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 38:291-315

XI. ANEXOS

Anexo 1. Altura promedio (m) de plantas de tomate cv. Hayslip, en el invernadero.

TRAT.	DIAS DESPUES DEL TRASPLANTE									
	1	7	14	21	28	35	42	49	56	86
TTA	0,36	0,4456	0,5621	0,7788	0,8688	1	1,0552	1,0892	1,0884	1,8888
TTR	0,36	0,4328	0,5076	0,6424	0,7204	0,8544	0,8792	0,9628	1,0164	1,1077
T10	0,36	0,4316	0,4792	0,6236	0,6996	0,8288	0,872	0,926	0,9388	0,9544
T20	0,36	0,4428	0,5324	0,67	0,7488	0,85	0,8888	0,972	0,9976	1,0456
T30	0,36	0,4324	0,5144	0,6576	0,7476	0,8336	0,8844	0,9524	0,9756	1,0394
T40	0,36	0,4228	0,4752	0,6036	0,708	0,8281	0,8864	0,9708	1,0016	1,0332
T50	0,36	0,4292	0,5044	0,6436	0,7116	0,72	0,8896	0,9736	1,0024	1,0284

Anexo 2. Volumen diario de agua de irrigación (l /planta) para plantas de tomate cv. Hayslip, en el invernadero.

DIAS	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO
1		2	2,5	2,8
5		2	2,5	2,7
9		2	2,5	2,9
13	1,5	2	2,5	2,8
17	1,5	2	2,5	2,8
21	1,5	2	2,5	2,7
25	1,5	2	2,5	2,8
29	1,5	2	2,5	2,8
31	1,5	2	2,5	2,8

Anexo 3. Promedio del índice de severidad, según los tratamientos.

TRAT.	DIAS DESPUES DEL TRASPLANTE								
	7	14	21	28	35	42	49	56	86
TTA	0	0,04	0,12	0,44	1,48	1,75	2,28	3	3
TTR	0	1	2,44	2,44	2,72	2,64	2,84	3	3
T10	0	1	1,96	1,96	1,8	2,8	2,92	3	3
T20	0	1	1,84	1,84	1,88	2,28	2,44	3	3
T30	0	1	1,88	1,88	1,68	2,16	2,44	3	3
T40	0	1	2	2	2,6	2,48	2,6	3	3
T50	0	1	1,88	1,88	2,28	2,68	2,72	3	3

Anexo 4. Concentración relativa de ADN viral según los tratamientos.

TRAT.	DIAS DESPUES DEL TRASPLANTE			
	15	30	45	60
TTA	173,9	181,9	180,7	180,6
TTR	176,5	184,1	182,8	194,8
T10	173,9	186,4	182,0	195,5
T20	175,6	180,4	187,0	189,1
T30	176,1	190,5	205,7	198,4
T40	178,3	182,3	202,7	187,9
T50	178,0	188,2	201,3	191,7

Anexo 5. Concentración de nutrimentos que no mostraron diferencias entre tratamientos .

DIAS DESPUES DEL TRASPLANTE					
NUTRI- MENTO	0	15	30	45	60
N	4,32	4,10142857	4,10142857	4,64857143	3,79571429
K	5	2,86285714	2,46571529	2,12285714	1,84857143
Mg	0,44	0,34428571	0,25428571	0,26	0,22
P	0,54	0,26142857	0,17714286	0,1942857	0,18714286
Cu	28	55,5714286	48,285143	17,7142857	32,5714286
Zn	64	89,7142857	103,428571	35,1428571	97,7142857
Mn	381	1845,71429	1081,71429	311,14285	334,285714

Anexo 6. Concentración de calcio, según los tratamientos

DIAS DESPUES DEL TRASPLANTE					
TRAT.	0	15	30	45	60
TTA	1,65	2,06	1,58	0,84	1,14
TTR	1,65	1,66	0,92	0,72	1,08
T10	1,65	1,68	0,98	0,96	0,98
T20	1,65	1,88	1,06	0,9	1,24
T30	1,65	1,6	1,1	0,76	1,06
T40	1,65	1,65	1,22	0,72	1,02
T50	1,65	1,54	1,12	0,86	1,08

Anexo 7. Tabla para la interpretación de valores nutricionales de la planta de tomate a mediados de la floración, según Jones (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 8. condiciones ambientales durante el experimento

DIAS	RADIACION SOLAR (Mj/cm ²)				TEMPERATURA (°C)				HUMEDAD RELATIVA (%)			
	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO
1		20	15	20.16		26	25	26		84	69	74
2		17.38	12.59	21.13		28.5	24.5	26.5		80	68.5	73
3		17.5	19.86	12.9		30	26	26.5		60	71.25	73.75
4		19.64	22.15	16.12		29	28	28.75		55	71.5	73
5		13.91	25.08	9.41		29	27.25	26		65	76.75	74.25
6		19.35	22.68	16.1		28.5	27.5	25.5		75	77	74.25
7		25.15	26.46	15		27	28.5	26.75		75	76.75	73.5
8		25.6	22.21	19.9		28	27.75	26.25		80	78.5	71.75
9		20.24	12.73	16.2		26.5	25.5	26.25		80	76.5	71.75
10		25.02	14.15	14.9		24	25.5	27.25		70	79.5	74.5
11		21.72	13.38	20.5		30	26	27.75		80	75.25	73.75
12		12.33	9.96	15.81		26	27.75	27.25		80	75.25	72.75
13		16.4	19.07	16.4		32	26.5	26.5		80	73.25	72.25
14		9.81	10.15	16.36		29	26.75	25.25		75	71.75	73.5
15		13.77	20.5	11		32	26.5	25.25		84	72.75	75
16		21.67	19.72	16.71		29	27.75	25.5		86	74.5	73.25
17	9.44	13.9	23.36	18.33	24	32	27.25	24.75	90	86	74.25	74
18	22.53	14.32	19.42	20.85	24	28.5	27.25	26.5	98	82	74.75	73.25
19	20.69	18.09	15.34	17.17	24	27	27.5	25.5	86	75.5	72.75	73.75
20	25.01	14.51	20.49	10	18	28	26.75	27	95	65.5	72	73.25
21	14.78	24.05	18.98	11.25	19.5	27	26.5	26.75	90	74.5	72.25	70.5
22	7.88	24.32	22.85	18.42	20	28	26.25	26.75	95	60	72.25	70.25
23	21.27	19.29	10.26	18.31	25	26	25.75	26.5	90	70	73.25	71.5
24	17.1	22.69	23.46	14.33	28	35	26.5	25.25	96	80	74.75	72.25
25	8.97	24.89	14.83	21.38	25	24	27.75	26	94	86	74.25	73.25
26	14.45	21.93	21.3	20	25	32	26	26.75	86	65	73.75	74.5
27	24.7	23.16	12.55	14.32	28	30	26.5	25.75	70	80	75.3	71.75
28	15.14	10.12	15.74	12.82	30	27	26.5	27.5	80	85	78	70
29	14.15	11.7	20.78	24.86	26	28	26.75	27.25	82	86	80	70
30	18.29	16.59	9.9	15.82	28	27.5	24.75	26.5	85	85	79	68.25
31	18	21.85	20	17.34	26	28		25.5	98	84	69	72.75