

Infeción del *Virus del rizado de las hojas del tomate* (ToLCV-Pan) por *Bemisia tabaci* en Panamá

Anayansi Valderrama¹
Aníbal Velásquez²
Orencio Fernández²

RESUMEN. La mosca blanca *Bemisia tabaci* es una plaga de importancia económica del cultivo del tomate en Panamá. El biotipo B causa daño tanto por su alimentación directa como por la transmisión de geminivirus. Este trabajo describe, por primera vez, las propiedades de infección y la relación virus - *B. tabaci* vector del *Virus del rizado de las hojas del tomate* (ToLCV-Pan), un geminivirus transmitido por *B. tabaci* en Panamá, que es un vector eficiente suya. En los estudios virus- vector, el período mínimo de adquisición fue de 0,25 h (5,6%) y la tasa de infección aumentó con la ampliación del período de acceso, alcanzando el máximo a las 24 h. El período mínimo de inoculación fue de 15 min y la tasa de infección también aumentó con la extensión del período de inoculación. La eficiencia relativa de infección para 1,5, 10 y 20 adultos de *B. tabaci* fue de 25,53,8, 75 y 100%, respectivamente.

Palabras clave: *Bemisia tabaci*, Virus del rizado de las hojas del tomate (ToLCV-Pan), Infección, Tomate.

ABSTRACT. Infection of Tomato Leaf Curl Virus-Pan (ToLCV-Pan) by Bemisia tabaci in Panama. Whitefly *B. tabaci* is an economically important pest of the tomato crop in Panama. Biotype B causes damage both by direct feeding and by transmission of geminivirus. This study describes, for the first time, the infection properties and the virus - *B. tabaci* relationship. *B. tabaci* is an efficient vector of the ToLCV-Pan, a geminivirus transmitted by *B. tabaci* in Panama. In the virus-vector studies, the minimum acquisition period was 0.25 h (5.6%) and the rate of infection increased with the acquisition period, reaching a maximum after 24 h. The minimum inoculation period was 15 min (5.3%) and the rate of infection also increased as the inoculation period was lengthened. Relative efficiencies of transmission for 1,5,10 and 20 *B. tabaci* adults were 25,53,8,75 and 100%, respectively.

Key Word: *Bemisia tabaci*, Tomato Leaf Curl Virus-Pan (ToLCV-Pan), Infection, Tomato.

Introducción

La mosca blanca, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) es una de las plagas más importantes en las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Gerling y Mayer 1996). El biotipo B, también llamado *B. argentifolii*, Bellows & Perring (Bellows *et al.* 1994) causa más daño a los cultivos por su mayor actividad de alimentación y eficiencia en la transmisión de virus, principalmente el género Begomovirus (anteriormente subgrupo III de la familia Geminiviridae). Los geminivirus poseen partículas isométricas gemelas y el genoma es DNA monocatenario circular.

Los Begomovirus poseen genoma bipartito, designado como DNA-A y DNA-B. (Lazarowitz 1992, Mayo y Martelli 1993).

El cultivo del tomate en América Central y el Caribe ha sido afectado seriamente por epidemias de geminivirus que han disminuido severamente la producción y la calidad de los frutos. (Brown y Bird 1992, Polston y Anderson 1997). El tomate industrial tiene gran importancia económica en la zona central de Panamá, conocida como arco seco, y conformada por las provincias de Coclé, Herrera y Los Santos. En esta zona, la población de mosca blanca ha aumentado consi-

¹ Programa Centroamericano de Maestría en Entomología. Panamá, Panamá anyval@hotmail.com

² Instituto de Investigaciones Agropecuarias de Panamá. Panamá, Panamá. ofernandez63@hotmail.com

derablemente debido a cambios climáticos y al uso inadecuado de insecticidas (Zachrisson y Poveda 1992). Los síntomas observados en tomate asociados a geminivirus son achaparramiento, moteado y rizado de las hojas. El geminivirus del tomate de esta región se caracterizó a nivel molecular y se denomina *Virus del rizado de las hojas del tomate de Panamá* (ToLCV-Pan) (Engel *et al.* 1998). Las pérdidas de tomate industrial atribuidas a la alta población de moscas blancas y a la infección del ToLCV-Pan en el arco seco se han estimado en 2184 kg/ha por año durante el período 1991-1997 de acuerdo al informe final de zafra de la compañía Nestlé (Engel *et al.* 1998)

El conocimiento de la forma de infección de los virus de una planta a otra por los insectos vectores es importante para comprender la epidemiología viral con el propósito de desarrollar estrategias de manejo, así como para la selección de progenitores y obtener variedades resistentes o tolerantes en programas de mejoramiento genético. Este trabajo describe las características de infección de ToLCV-Pan por su vector *B. tabaci*.

Materiales y métodos

Mantenimiento del virus, las moscas blancas y las plantas.

Los adultos de *B. tabaci* biotipo B se obtuvieron de una colonia libre de virus mantenida en berenjena en una jaula a prueba de insectos. Estas plantas se renovaron cada 30 días.

Las moscas blancas de esta colonia provenían de Tres Quebradas y Sabana Grande, Provincia de Los Santos, y de Los Castillos de Parita, Provincia de Herrera. El biotipo fue identificado como B mediante análisis de RAPD-PCR (P. Anderson 1999, *Com. pers.*) y la producción del síndrome de hoja plateada en zapallo (*Cucurbita pepo*).

Las pruebas de adquisición, inoculación y eficiencia de infección se realizaron en los invernaderos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Panamá, ubicados en Tocumen. La temperatura promedio del área fue de 29° C, mientras la del invernadero fue de 35° C, con máximas y mínimas de 38° C y 24° C, respectivamente.

Como fuente de inóculo se utilizó un aislamiento del virus de una planta de tomate con síntomas de encrespamiento de las hojas, mosaico y achaparramiento proveniente de Tres Quebradas, provincia de Los Santos. Este se mantuvo en el invernadero en plantas de tomate mediante infección por *B. tabaci*.

Relación Virus- Vector

En las pruebas de infección de ToLCV-Pan se utilizó la variedad de tomate Floradade, susceptible a ToLCV-Pan y a geminivirus en general. En esta variedad se observan los síntomas evidentes de infección viral entre 7 días (mínimo) y 15 días (máximo) después de la inoculación con las moscas blancas. Las plantas se sembraron en macetas de 340 g que se introdujeron en macetas de 4 kg y se cubrieron con una malla en forma de campana de 17 cm de diámetro y 19 cm de altura. En todas las pruebas se utilizaron plantas con la primera hoja verdadera completamente desarrollada.

Los insectos adultos (hembras y machos) se manipulaban con la ayuda de un aspirador. Se les permitió alimentarse en tomate infectado con ToLCV-Pan durante varios períodos de adquisición (0,25; 0,5; 1; 2; 4; 10 y 24 h) y luego 24 h en tomate sano. Para cada período de adquisición se utilizaron cinco insectos por planta sana y cinco plantas por repetición. En los tiempos 0,25; 0,5 y 1 h se hicieron 4 repeticiones y en los períodos de 2,4,10 y 24 h se realizaron 2 repeticiones. Se utilizaron más repeticiones en los tratamientos con 1 h o menos para confirmar la infección obtenida en tiempos tan breves.

Para determinar el período mínimo de inoculación, *B. tabaci* permaneció 45 h en plantas de tomate infectadas con ToLCV-Pan como período de adquisición. Se evaluaron varios períodos (0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 24; 48 y 72 h) de inoculación del virus, para lo cual *B. tabaci* se mantuvo en plantas de tomate sanas durante ese tiempo. Se utilizaron 10 moscas blancas por planta en cada período y 5 plantas por repetición.

El efecto del número de vectores en la eficiencia relativa de infección del virus se determinó utilizando 1,2,3,5,7,10 y 20 adultos por planta. Luego de un período de adquisición de 24 h en tomate infectado con ToLCV-Pan permanecieron 24 h en tomate sano para la inoculación. Se utilizaron 5 plantas por repetición. En el caso de 1 y 2 insectos/planta se hicieron 4 repeticiones, para 3 y 5 insectos 3 repeticiones y para 7, 10 y 20 insectos/planta se hicieron 2 repeticiones. El número de repeticiones fue mayor en los tratamientos con menos insectos para asegurar la eficiencia de infección con pocos individuos.

En todos los experimentos se incluyó una planta de tomate sana con 5 adultos no virulíferos de *B. tabaci* y una planta sana sin moscas blancas. Al finalizar cada período de prueba las plantas fueron asperjadas con endosulfán para eliminar las moscas blancas y las plantas se mantuvieron aisladas en jaulas.

las con mallas a prueba de insectos hasta la aparición de síntomas. Veinticinco días después de la inoculación se evaluaron los síntomas. Cuando las plantas aparecían asintomáticas se dejaron 10 días adicionales en observación.

Resultados y discusión

Adquisición de ToLCV-Pan

La infección con ToLCV-Pan por *B. tabaci* se produjo después de un período mínimo de 15 min (Cuadro 1). La tasa de infección aumentó a medida que el período de adquisición se incrementó y alcanzó el valor máximo con un tiempo de adquisición de 24 h.

Los virus transmitidos en forma circulativa por sus insectos vectores tienen mayor probabilidad de ser transmitidos conforme aumenta el período de adquisición. Otros autores han encontrado patrones similares de transmisión con diferentes geminivirus del tomate en el viejo y el nuevo mundo. (Cohen y Nitzany 1966, Uzcátegui y Lastra 1978, Brown y Nelson 1988, Mansour y Al-Musa 1992, Mehta *et al.* 1994, Bonilla 1995, Idris y Brown 1998).

El corto período de adquisición de ToLCV-Pan, comparado con otros geminivirus del tomate, posiblemente se debe a la mayor capacidad de alimentación del biotipo B utilizado en este estudio. Brown (1992) y Mehta *et al.* (1994) obtuvieron resultados similares utilizando el biotipo B con los *Virus del tomate rizado de las hojas de Sinaloa* (STLCV) y *Virus del rizado amarillo de las hojas* (TYLCV), respectivamente. El biotipo B está adaptado al tomate y es más fecundo en este cultivo comparado al biotipo A.

Cuadro 1. Infección de ToLCV-Pan por *B. tabaci* después de varios períodos de adquisición en plantas de tomate infectadas y de transferencia a plantas de tomate sanas durante un período de inoculación de 24 horas.

Período de Adquisición (h)	Proporción de plantas enfermas ^{a/b}	Porcentaje
0,25	1/18	5,6
0,5	2/19	10,5
1	2/15	13,3
2	4/8	50,0
4	5/8	71,4
10	4/8	50,0
24	10/10	100

V Se usaron cinco especímenes de *B. tabaci* por planta.

a. Número de plantas infectadas/ b. Número de plantas evaluadas.

ToLCV-Pan está estrechamente relacionado al *Virus del mosaico amarillo de la papa* (PYMV) de Venezuela (Engel *et al.* 1998). Los resultados preliminares de la caracterización molecular del Virus del mosaico amarillo del tomate (ToYMV) sugieren que PYMV es en realidad ToYMV (Morales y Anderson 2001) Sin embargo, el tiempo mínimo de adquisición de ToYMV fue de 2 h (Uzcátegui y Lastra 1978) y el de ToLCV-Pan de 15 min. Posiblemente, esta diferencia se deba a temperaturas más altas en estos ensayos. La temperatura promedio utilizada en estas pruebas fue de 35°C. Uzcátegui y Lastra (1978) obtuvieron mayor eficiencia de infección a temperaturas entre 30 y 34°C, comparando con 20-30°C.

Inoculación de ToLCV-Pan

La infección de ToLCV-Pan por *B. tabaci* se dio después de un período mínimo de inoculación de 0,25 h (Cuadro 2). La tasa de infección aumentó a medida que se extendía el período de inoculación y alcanzó el máximo a las 24 h. El tiempo mínimo de inoculación de 15 min se puede atribuir al largo período de adquisición utilizado (45 h). Brown y Nelson (1988) obtuvieron con el *Virus Chino del tomate* (CdTV) un período mínimo de inoculación de 10 min cuando el período de adquisición fue de 48 h.

A medida que aumenta el período de adquisición el insecto tiene mayor capacidad de infectar a las plantas con el virus. Esto puede deberse al traslape del período de adquisición con el período de latencia, cuando el primero es muy largo. El período de latencia de ToLCV-Pan de acuerdo a estos resultados debería ser menor de 24 h.

Cuadro 2. Infección de ToLCV-Pan por *B. tabaci* después de un período de adquisición de 45 h en plantas de tomate infectado y de transferencia a plantas de tomate sano durante varios períodos de inoculación.

Período de inoculación (h)	Proporción de plantas enfermas ^{a/b}	Porcentaje
0,25	1/19	5,3
0,5	2/20	10,0
1	4/19	21,0
2	4/14	28,6
4	14/20	70,0
8	11/12	91,7
24	10/10	100
48	10/10	100
72	10/10	100

V Se usaron diez moscas blancas por planta.

a. Número de plantas infectadas/ b. Número de plantas evaluadas.

Efecto del número de moscas blancas en la eficiencia de infección del virus

Un adulto de *B. tabaci* fue capaz de infectar plantas de tomate con el ToLCV-Pan pero la tasa de infección aumentó a más del doble cuando se utilizaron cinco insectos por planta (Cuadro 3). A medida que aumentó el número de insectos aumentó también la proporción de plantas enfermas hasta alcanzar el 100% con 20 insectos por planta. Con 20 vectores por planta se alcanza 100% de infección con el *Virus chino del tomate*. La tasa de infección de TYLCV ha variado según los informes de varios trabajos, llegando a 100% con 15 vectores por planta (Cohen y Nitzany 1966), 67% con 15 insectos virulíferos por planta (Mansour y Al Musa 1992) y 97% con 20 insectos virulíferos por planta (Mehta *et al.* 1994). Estas diferencias posiblemente se deban a otros factores experimentales como genotipo del tomate, edad de la planta sana al momento de la inoculación, temperatura, biotipo y sexo de los insectos utilizados en cada investigación. En general, las hembras son vectores más eficientes que los machos (Cohen y Nitzany 1966, Uzcátegui y Lastra 1978, Nateshan *et al.* 1996). Por lo tanto, los resultados pueden variar entre uno y otro experimento dependiendo de la proporción entre hembras y machos empleados en cada prueba. La planta enferma como fuente de virus parece no tener importancia, dado que *B. tabaci* adquiere cantidades similares de virus en plantas con baja o alta concentración de TYLCV (Zeidan y Czosnek 1991). Idris *et al.* (2001) demostraron que el biotipo A es más eficiente que el biotipo B en transmitir el *Virus del Chino del tomate* empleando un solo insecto virulífero. Sin embargo, el éxito del biotipo B como vector de geminivirus en el Nuevo Mundo se debe a su capacidad de alcanzar altas densidades de población y de desplazar las poblaciones de biotipos locales.

En esta investigación, en el experimento donde varió el período de adquisición (Cuadro 1) se obtuvo 100% de infección con 5 insectos por planta y en aquel donde varió el número de insectos (Cuadro 3) se obtuvo 100% de infección con 20 moscas blancas por planta. Comparando el Cuadro 1 (100% de infección con 5 moscas blancas) con los resultados del Cuadro 2 (100% de infección con 10 insectos), vemos que en

ambos experimentos se emplearon 24 h de inoculación y el tiempo de adquisición es mayor para el segundo ensayo (45 h) por lo que se esperaría mayor eficiencia con menos insectos. Estas diferencias pueden atribuirse a diferencias de temperatura entre un experimento y otro, ya que durante la investigación la temperatura fue variable; o bien a diferencias en la proporción de sexos en cada prueba, dado que no se registró la proporción de hembras y machos. No obstante, dentro de cada experimento se observa una tendencia en cuanto a la adquisición o la infección cuando los otros factores se mantienen constantes. La importancia de estos resultados es que muy pocas moscas blancas virulíferas son necesarias para alcanzar 100% de infección y así fácilmente desatar una epidemia.

Cuadro 3. Infección de ToLCV-Pan por *B. tabaci* después de un período de adquisición de 24 h en plantas de tomate infectado y un período de inoculación de 24 h en plantas de tomate sano, en función del número de insectos por planta.

Insectos por planta	Proporción de plantas enfermas ^{a/b}	Porcentaje
1	4/16	25,0
2	6/18	33,3
3	5/14	35,7
5	7/13	53,8
7	7/10	70,0
10	6/8	75,0
20	10/10	100,0

a. Número de plantas infectadas/b. Número de plantas evaluadas.

El reconocimiento y la comprensión de las características de la relación virus-vector-hospedante son críticos para diseñar estrategias eficientes de manejo integrado de geminivirus en tomate. El control químico por sí solo es ineficaz, ya que poblaciones muy bajas de moscas blancas pueden infectar el 100% de las plantas en el campo debido a su gran eficiencia como vector. Además, los trabajos sobre la infección controlada con insectos, aunque son arduos, pueden ser una herramienta útil para la selección de genotipos de tomate resistentes o tolerantes a geminivirus en programas de mejoramiento genético que no cuenten con facilidades de biología molecular.

Literatura citada

- Bellows, TS; Perring, TM; Gill, RJ; Headrick, DH. 1994. Description of a species of *Bemisia* (Hom: Aleyrodidae) infesting North American agriculture. *Ann. of the Ent. Soc. of America* 87:195-206.
- Bonilla, F. 1995. Períodos 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.
- Brown, JK; Nelson, MR. 1988. Transmission, host range and virus- vector relationship of *Chino del Tomate Virus*, a whitefly transmitted geminivirus from Sinaloa, Mexico. *Plant Dis.* 72:866-869.
- Brown, JK. 1992. Evaluación crítica sobre los biotipos de moscas blancas en América, de 1989 a 1992. *In* Taller Centroamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas (1992, Turrialba, Costa Rica). *Memorias* p. 1-9.
- Brown, JK; Bird, J. 1992. Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Dis.* 76:220-225.
- Cohen, S; Nitzany, FE. 1966. Transmission and host range of the *Tomato yellow leaf curl virus*. *Phytopathology* 56: 1127-1131.
- Engel, M; Fernández, O; Jeske, H; Frischmuth, T. 1998. Molecular characterization of a new whitefly transmissible bipartite geminivirus infecting tomato in Panama. *J. Gen. Virol.* 79:2313-2317.
- Gerling, D; Mayer, RT. Eds. 1996. *Bemisia* 1995: Taxonomy, biology, damage, control and management. United Kingdom, Intercept. 702 p.
- Idris, AM; Smith, SE; Brown, JK. 2001. Ingestion, transmission and persistence of *Chino del Tomate Virus* (CdTV), a New World begomovirus by Old and New World biotypes of the whitefly vector *Bemisia tabaci*. *Ann. Appl. Biol.* 139: 145-154.
- Idris, AM; Brown, JK. 1998. *Sinaloa tomato leaf curl geminivirus*: Biological and molecular evidence for a new subgroup III virus. *Phytopathology* 88:648-657.
- Lazarowitz, SG. 1992. Geminiviruses: genome structure and function. *Crit. Rev. Plant Sci.* 11:327-349.
- Mansour, A; Al-Musa, A. 1992. *Tomato yellow leaf curl virus*: host range and virus- vector relationship. *Plant Pathology* 41:122-125.
- Mayo, MA; Martelli, GP. 1993. New families and genera of plant viruses. *Arch. Virol.* 133:496-498.
- Mehta, P; Wyman, JA; Nakhla, MK; Maxwell, DP. 1994. Transmission of *Tomato yellow leaf curl geminivirus* by *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *J. Econ. Entomol.* 87:1291-1297.
- Morales, FJ; Anderson, PK. 2001. The emergence and dissemination of whitefly-transmitted geminiviruses in Latin America. *Arch. Virol.* 146:415-441.
- Nateshan, HM; Muniyappa, V; Swanson, MM; Harrison BD. 1996. Host range, vector relations and serological relationships of cotton leaf curl virus from southern India. *Annals of Applied Biology* 128:233-244.
- Polston, JE; Anderson, PK. 1997. Emergence of whitefly-transmitted geminiviruses in tomato in the western hemisphere. *Plant Dis.* 81:1358-1369.
- Uzcátegui, RC De; Lastra, R. 1978. Transmission and physical properties of the causal agent of mosaico amarillo del tomate (tomato yellow mosaic) *Phytopathology* 68: 985-988.
- Zachrisson, B; Poveda, J. 1993. Las moscas blancas en Panamá. *In* Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. Hilje, L; Arboleda, O. Ed. CATIE, Turrialba, Costa Rica. p. 64-66.
- Zeidan M; Czosnek, H. 1991. Acquisition of *Tomato yellow leaf curl virus* by the white fly *Bemisia tabaci* *J. of General Virology* 72:2607-2614.