

CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y
ENSEÑANZA (CATIE)

PROGRAMA DE ENSEÑANZA PARA EL DESARROLLO Y LA
CONSERVACION

**EFFECTO DE INOCULACIONES MULTIPLES DEL
GEMINIVIRUS ToYMV-CR EN PLANTAS DE TOMATE
TRATADAS CON DOSIS ALTAS DE FOSFORO**

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

Vladimir Villalba Velásquez

Turrialba, Costa Rica

1997

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

MAGISTER SCIENTIAE

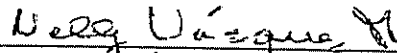
FIRMANTES:



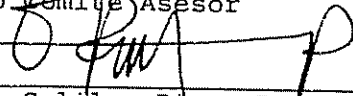
Luko Hilje Q., Ph.D.
Profesor Consejero



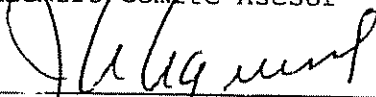
Pilar Ramirez, Ph.D.
Miembro Comité Asesor



Nelly Vasquez Morera, M.Sc.
Miembro Comité Asesor



Gonzalo Galileo Rivas P., M.Sc.
Miembro Comité Asesor



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



Markku Kanninen, Ph.D.
Director, Programa de Enseñanza



Vladimir Villalba Velasquez
Candidato

DEDICATORIA

A mis dos bellezas: *MATILDE MIRVIDIA* y *FLORITZA MARISELA* por ser ante todo la parte más importante de mi vida, mi espíritu de superación y el principal estímulo de lucha por ser cada día mejor.

A mi esposa: *FLORVIDIA MARIA* por amarte sin medidas ni reservas, mujer dulce y amable que junto a mí ha compartido momentos de alegría, lucha, sacrificio y tristezas, por ser la madre de mis hijas y con quien deseo seguir compartiendo el resto de mis días.

A mis padres *RAFAEL JOSE* y *JOSEFINA DEL VALLE* por sus sabios y acertados consejos; pilares fundamentales de mi formación y de quienes he sabido tomar modelo de rectitud, trabajo, constancia, sacrificio, honestidad y perseverancia a lo largo de mi vida.

A mis hermanos: *MARISELA, LEONARDO, BERNARDO, VIRGILIO Y ERNESTO* por seguir siendo seres maravillosos

A mi querida patria *VENEZUELA*, que me vio nacer y por el inmenso orgullo que se siente el ser *VENEZOLANO* cuando uno está fuera de su país.

A mi querido pueblo de *IRAPA*, al que siempre llevaré en mi corazón donde quiera que esté por guardar de ese hermoso lugar los más bonitos recuerdos de mi vida

A todos los *COSTARRICENSES* que de una u otra forma me hicieron sentir como si estuviera en mi propia casa.

A muchos de mis seres queridos que hoy descansan en la PAZ del DIOS TODOPODEROSO.

AGRADECIMIENTOS

Deseo hacer expresivo mi agradecimiento a todas aquellas personas que de una u otra manera contribuyeron de manera valiosa haciendo posible la ejecución del presente trabajo y en mis estudios de maestría, muy especialmente:

A mi Dios Todopoderoso y a la Santísima Virgen María , por haberme guiado e iluminar mi mente en los momentos más difíciles, permitiéndome culminar con éxito esta meta.

A mis amigos: José Javier Alió Migno y Asdrúbal Díaz Quintana por haber creído en mí e incondicionalmente haberme dado apoyo demostrando una verdadera amistad en todo momento

Al Dr. Luko Hilje, por los conocimientos compartidos y quien tuvo la idea de realizar el presente trabajo.

A la Dra. Pilar Ramírez por haberme permitido ampliar mis conocimientos en el área de la biología molecular y celular, sin reservas

A los M.Sc. Nelly Vásquez y Galileo Rivas por haber sido parte de mi comité asesor, por sus valiosas sugerencias, por su apoyo y colaboración incondicional en la ejecución de éste trabajo y, por sobre todas las cosas, haberme demostrado amistad en los momentos en que los necesité.

Al M.Sc. Douglas Cubillo por la ayuda en los análisis estadísticos y recomendaciones técnicas durante el desarrollo del experimento.

Al personal del Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular (CIBCM) de la Universidad de Costa Rica, especialmente a Alexis Serrano y Omar Collado, por su colaboración en la adquisición de nuevos conocimientos

A la Srta. Carol Salazar del laboratorio de histología del CATIE por su valiosa colaboración en la realización de los corte y coloraciones de las muestras histológicas

A todo el personal de la Biblioteca Conmemorativa Orton, especialmente a Rigoberto Aguilar, Addys Mora, Juan Rojas y Katia Castillo por su amabilidad y buena atención.

A Rómulo Olivo y María Teresa de Olivo por la amistad, hospitalidad brindada y por el gran apoyo económico en los momentos en los que les necesité durante el primer año de maestría

A mis compañeros latinoamericanos de la promoción 1996-1997, por haber compartido momentos de tristeza y alegrías durante estos dos años , especialmente a mis compañeros “MIPIOLOGOS” por haberme soportado y permitirme haberles conocido.

A todos... Muchas Gracias.

TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
TABLA DE CONTENIDO	vi
RESUMEN	viii
SUMMARY	ix
LISTA DE CUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE ANEXOS	xii
I INTRODUCCION	1
Objetivos	3
Hipótesis	3
II REVISION DE LITERATURA	4
2.1 Daño e importancia económica de <i>Bemisia tabaci</i>	4
2.2 Los geminivirus	5
2.2.1 Generalidades	5
2.2.2 Relación geminivirus-planta-vector	6
2.2.3 Efectos anatómicos y fisiológicos de los virus en plantas	7
2.3 Efectos de la fertilización sobre la atenuación de virosis	9
2.4 Efectos de la densidad del vector	13
III MATERIALES Y METODOS	15
3.1 Localización del experimento	15
3.2 Colonias de <i>B. tabaci</i>	15

3.3	Manejo del cultivo	15
3.4	Fertilización	16
3.5	Tratamientos y diseño experimental	17
3.6	Transmisión	17
3.7	Variables de respuesta	18
3.7.1	Altura	18
3.7.2	Severidad	18
3.7.3	Biomasa final	19
3.7.4	Rendimiento	19
3.7.5	Estudios histológicos	19
3.8	Análisis estadístico	20
IV	RESULTADOS	21
V	DISCUSION	36
VI	CONCLUSIONES	40
VII	RECOMENDACIONES	41
VIII	LITERATURA CITADA	42
IX	ANEXOS	48

VILLALBA VELASQUEZ, V. 1997 Efecto de inoculaciones múltiples del ToYMV-CR en plantas de tomate tratadas con dosis altas de fósforo Tesis Mag. Sci. Turrialba. CATIE. 54p.

RESUMEN

En el invernadero se evaluó el efecto de las inoculaciones múltiples del geminivirus ToYMV-CR de una nutrición rica en fósforo, sobre la histología y la severidad de la enfermedad.

Se utilizaron plantas de la variedad Haslyp. El almácigo se cubrió con la malla fina IN 50, por 22 días. En el invernadero se estableció un diseño de bloques completos al azar donde se evaluaron dos niveles de fósforo (600-1800 kg/ha) y el número de inoculaciones del virus (1, 2, 3 y 4) en días consecutivos desde el momento del trasplante, en un arreglo factorial 2 x 5, con cinco repeticiones y ocho tratamientos inoculados con el virus y dos sin inocular. Las dosis se aplicaron semanalmente durante 45 ddt, según la curva de absorción de nutrimentos del cultivo. Para los estudios histológicos se realizaron muestreos de raíz, tallo y hojas a los 5, 15 y 30 días después de la inoculación, deshidratándose en serie ascendente de alcohol, infiltrándose en historesina para realizar los cortes que fueron coloreados con la cuadruple coloración y vistos al microscopio. Se registraron la severidad de la enfermedad, altura, biomasa de la planta y rendimientos subdivididos por categorías comerciales.

En todos los tratamientos inoculados la severidad redujo los rendimientos según ecuación cuadrática para los tratamientos 3, 4, 5 y 6 y mediante un modelo lineal para los tratamientos 7, 8, 9 y 10. Los análisis de correlación no mostraron diferencias ($p < 0,05$) entre tratamientos, solo cuando fueron comparados con los testigos, no hubo diferencias entre las dosis de fósforo entre tratamientos. La fertilización con dosis altas de fósforo, superiores a las recomendadas comercialmente, no afectó los rendimientos del cultivo. La severidad del mosaico amarillo del tomate repercutió negativamente en el rendimiento de las plantas de tomate, pues a medida que se incrementó, el rendimiento disminuyó. La fertilización rica en fósforo no atenuó la severidad del mosaico amarillo del tomate.

VILLALBA VELASQUEZ, V. 1997. Multiple ToYMV-CR inoculations over tomato plants effect, treated with high dosages of phosphorus. Tesis Mag. Sci. Turrialba. CATIE. 54p.

SUMMARY

Under green house conditions the effect of multiple inoculation of geminivirus ToYMV-CR of a rich phosphorus nutrition was evaluated over disease histology and severity.

Haslyp variety plants were used. The nursery was covered with fine sreen IN50 during 22days, Random complete blocks were designed in green house where tow lwwls of phosphorus (600-1800 kg/ha) and number of virus inoculations (1, 2, 3 and 4) where evaluated during consecutive days from the moment of transplant in a 2x5 factorial arrangement, with 5 repetitions, 8 virus inoculations and 2 with out inoculations. Dosages were applied weekly during 45 dat, acoording to the nutritional absorption of the crop. For histological studies, samples of roots, stem and leaves were done after inoculation at days 5, 15 and 30, dehydrating with alcohol in a ascending series, infiltrating in the historesin to perform colored cuts to be studied under microscope. Disease severity, height, biomass and yield subdivided by commercial categories were registered.

In all inoculation treatments yield was reduced by severity according to the quadratic equation for treatments 3, 4, 5 and 6; and through a lineal model for treatments 7, 8, 9 and 10. Correlation analysis did not show differences ($p < 0,05$) between treatments, only when compared with the pilot; there was no differefnce with the phosphorus treatments. Fertilized crops with high dosages of phosphorus, above the commercially advised dosages, did not affect de crops yield. The severity ofe the tomato yellow mosaic had negative effect over the tomato plants yield, since it was seen that as it increased, yield decreased

Rich fertilization with phosphorus did not reduce tomato yellow mosaic severity

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1	Dosis semanal de producto comercial de N-P-K (g de producto comercial) aplicado por maceta. CATIE, Turrialba, 1997.	16
Cuadro 2	Tratamientos evaluados.	18
Cuadro 3	Escala para medir el índice de severidad.	18
Cuadro 4	Area bajo la curva de progreso de la enfermedad total (ABCPE) e índice de severidad promedio (I.S.) por tratamientos. CATIE, Turrialba. 1997.	23
Cuadro 5	Contrastes ortogonales para índice de severidad de varios grupos de tratamientos. CATIE, Turrialba. 1997.	23
Cuadro 6	Contrastes ortogonales para biomasa total de varios grupos de tratamientos. CATIE, Turrialba 1997.	26
Cuadro 7	Contrastes ortogonales para rendimiento total de varios grupos de tratamiento. CATIE, Turrialba 1997.	26
Cuadro 8	Ecuaciones de la regresión del promedio de severidad sobre el rendimiento total según los tratamientos. CATIE, Turrialba. 1997.	30

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Promedios semanales altura durante el experimento, para los tratamientos con 600 kg P/ha. CATIE, Turrialba. 1997	22
Figura 2	Promedios semanales altura durante el experimento, para los tratamientos con 1800 kg P/ha. CATIE, Turrialba. 1997.	22
Figura 3	Curvas de progreso de la enfermedad, según el porcentaje de plantas enfermas (PPE), por fecha para los tratamientos con 600 kg P/ha. CATIE, Turrialba. 1997.	24
Figura 4	Curvas de progreso de la enfermedad, según el porcentaje de plantas enfermas (PPE), por fechas para los tratamientos con 1800 kg P/ha. CATIE, Turrialba. 1997.	24
Figura 5	Promedio del número de frutos, por clases comerciales, según los tratamientos. CATIE, Turrialba. 1997.	27
Figura 6	Promedio del rendimiento, según las clases de frutos por clases comerciales, para cada tratamiento. CATIE, Turrialba. 1997.	27
Figura 7	Sección transversal de raíz. (A) Obsérvese la peridermis (p), capa cortical (cp), cambium vascular (cv) (B) Detalle de la sección transversal de raíz, obsérvese xilema (x), floema (f), precipitado en el elemento conductor (pr), rayos (r), cambium vascular y placa cribosa (pc) CATIE. Turrialba, 1997.	29
Figura 8.	Tallos en crecimiento primario. (A) Corte transversal, obsérvese tricomas (t) (B) Epidermis (e), estomas (es), precipitado (p), cámara subestomática (cs) y tricomas (t). (C) Detalle de las primeras capas, obsérvese epidermis (e), capa parenquimática (cp), núcleos (n), cloroplastos (o), colénquima angular (a), células parenquimáticas (p) (D) Tejido vascular en detalle obsérvese xilema (x), floema (f), cambium vascular (cv), células compañeras (cc), placa cribosa (pc) y médula (m) CATIE. Turrialba, 1997	31

- Figura 9. Tallo en crecimiento secundario. **(A)** Corte transversal obsérvese epidermis (e), estomas (es), parénquima fotosintético (pf), colénquima angular (ca), capa parenquimática (cp), esclerénquima (esc) y médula (m). **(B)** Detalle de la placa cribosa (pc) **(C)** Detalle del tejido vascular, obsérvese xilema (x), floema (f), cambium vascular (cv), capa parenquimática (cp) y colénquima angular (ca). CATIE. Turrialba, 1997. 32
- Figura 10. **(A)** Hoja normal en corte transversal, observése epidermis (e), tricomas (t), tejido conductor (tc) y vena media **(B)** Detalle de la hoja, obsérvese epidermis (e), estomas (es), mesófilo en empalizada (men), mesófilo esponjoso (me), e hidioblastos (h). **(C)** Hoja donde se observa lo compacto del tejido. CATIE. Turrialba, 1997. 34
- Figura 11. Hoja afectada por el virus. **(A)** Detalle de los cloroplastos bordeando la pared celular (o). **(B)** Obsérvese deformaciones de la epidermis (e) y células oclusivas (co), hidioblastos (h). **(C)** Detalle de un hidioblasto. **(D)** Tricomas deformados (t), espacios aereos (ea). **(E)** puntos negros adheridos a la pared celular de las células del floema (pn). CATIE. Turrialba, 1997. 35

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1	Análisis químico del suelo, previo a la siembra del experimento	52
Anexo 2	Ajuste de la aplicación semanal de N-P-K (porcentual), según la curva de absorción del cultivo.	52
Anexo 3	Altura semanal promedio (cm) de las plantas de tomate, según los tratamientos. CATIE, Turrialba, 1997.	53
Anexo 4	Promedio semanal del índice de severidad, según los tratamientos. CATIE, Turrialba, 1997.	54
Anexo 5	Promedio del peso seco (g/planta) por estructura, según los tratamientos. CATIE, Turrialba. 1997.	55
Anexo 6	Promedio del número de frutos por clases comerciales, según los Tratamientos. CATIE, Turrialba. 1997.	56
Anexo 7	Promedio del rendimiento (g/planta), producción 8t/ha y por clase de frutos, según los tratamientos. CATIE, Turrialba. 1997.	57

I. INTRODUCCION

El tomate (*Lycopersicon esculentum*) (Solanaceae) es el cultivo hortícola más importante a nivel centroamericano, debido al área sembrada, que es de aproximadamente 21.000 ha/año, como también por el valor de su producción, que se destina principalmente al consumo fresco y supera los US\$50 millones por año; la mayor parte del área cultivada en América Central se siembra en Guatemala y Honduras (CATIE 1990).

Actualmente el principal problema fitosanitario del cultivo es la presencia de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) y los geminivirus transmitidos por ella. Cultivos como el frijol y tomate, han sido los más severamente afectados por este grupo viral desde el sur de los EE.UU. hasta Argentina, y en todos los países del Caribe (Brown 1994).

En la actualidad, en el continente americano se dedican grandes esfuerzos en investigación básica y en métodos para el combate de *B. tabaci*. En Costa Rica, en el área de prácticas agrícolas en tomate se han logrado avances importantes en el desarrollo de prácticas preventivas, como el uso de mallas finas para proteger semilleros, coberturas al suelo, cultivos trampa y esquemas de fertilización (Hilje y Cubillo 1996).

En cuanto a los esquemas de fertilización, datos previos de invernadero (Padilla 1995) indican que altas dosis de fósforo aplicadas al suelo pueden atenuar la severidad del mosaico amarillo del tomate (causada por el geminivirus ToYMV-CR, transmitido por *B. tabaci*), y aportar rendimientos satisfactorios. No obstante, los datos posteriores de campo no han coincidido con los de invernadero (Cubillo *et al.*, inédito), posiblemente por varias razones. Se hipotetiza que la principal razón es que en el campo los vectores inoculan a las plantas en forma reiterativa, en contraste con los experimentos de invernadero, donde se ha hecho una sola inoculación. Esto también se sustenta con datos que demuestran que los rendimientos disminuyen al incrementarse la densidad de adultos de *B. tabaci* virulíferos (Salazar 1996).

El esclarecimiento de esto tiene gran valor práctico. Este trabajo de investigación pretende hacerlo, al contrastar inoculaciones únicas y múltiples, evaluar su interacción con dos niveles de fósforo y analizar su efecto histológico en plantas de tomate infectadas.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar, como un modelo aplicable a varios cultivos, el efecto de inoculaciones múltiples del geminivirus ToYMV-CR y de una nutrición rica en fósforo, sobre la histología y la severidad de la enfermedad.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar si las inoculaciones múltiples del geminivirus ToYMV-CR permiten maximizar el índice de severidad más temprano.
- Determinar si la nutrición rica en fósforo atenúa la severidad del mosaico amarillo.
- Estudiar la respuesta histológica de plantas infectadas por el geminivirus ToYMV-CR a inoculaciones múltiples y dosis altas de fósforo.

HIPOTESIS

- Las inoculaciones múltiples del geminivirus ToYMV-CR incrementan la severidad del mosaico amarillo y alteran histológicamente a las plantas.
- La nutrición rica en fósforo aplicada al suelo disminuye la severidad del mosaico amarillo.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 Daño e importancia económica de *Bemisia tabaci*

En el tomate, en América Central y el Caribe, *B. tabaci* ha generado una grave crisis desde 1986 (Hilje y Arboleda 1993). Los daños que causa son directos e indirectos. Los daños directos consisten en la succión de savia, necrosis de los tejidos afectados y defoliación, principalmente cuando hay gran cantidad de ninfas. Otros problemas asociados son la presencia del hongo fumagina (*Capnodium* spp), el cual interfiere con la actividad fotosintética y respiratoria de las plantas (King y Saunders 1985, Byrne *et al.* 1991) y el síndrome de la maduración irregular del tomate, que hace que el fruto muestre bandas longitudinales amarillentas y que los tejidos internos permanezcan blanquecinos, sin llenar completamente (Schuster *et al.* 1989). Sin embargo, los daños indirectos son los que causan problemas más graves, por transmisión de virus, específicamente geminivirus, los cuales están asociados con los tejidos vasculares de la planta (Brown y Bird 1991, Lastra 1993).

La infección de los geminivirus que causan el mosaico amarillo del tomate altera la mayoría de los procesos vitales en la planta de tomate (Lastra 1993). Se presenta como un amarillamiento general y las hojas superiores se tornan coriáceas y pequeñas. Se disminuye el contenido de clorofila y la tasa de fotosíntesis en 40-50%, y posteriormente se aumenta la tasa de respiración en 80-100%. Las partículas virales se multiplican principalmente en las células vasculares jóvenes y dañan el floema. Por esto, la infección puede interferir con el transporte normal de los metabolitos y consecuentemente, causar acumulación de carbohidratos en las hojas más viejas. Estos cambios fisiológicos tan drásticos reducen el crecimiento de las plantas y el rendimiento (Leal y Lastra 1984).

Aunque es difícil cuantificar adecuadamente el impacto causado por *B. tabaci* sobre la producción, algunas cifras aportan una idea parcial de la magnitud del daño. En Mesoamérica y el Caribe, la producción de frijol en Boaco (Nicaragua) decreció de 3,15 a 0,7 t/ha a causa del mosaico dorado del frijol (BGMV) (Comisión Nacional de Mosca Blanca 1993). En cuanto a tomate, en Comayagua (Honduras), en 1992,

500 productores perdieron cerca de \$ 4.600.000 (Caballero y Rueda 1993); en el Valle Central (Costa Rica), el rendimiento promedio ha disminuido de 35 a 21 t/ha (Gustavo Calvo 1995, CATIE, com, pers); en la República Dominicana hubo pérdidas de 80% en 1993-1994, y en el oriente de Guatemala de 60% en 1992 (Douglas P. Maxwell 1995, University of Wisconsin-Madison, com pers). A las pérdidas *per se* debe sumarse el aumento en los costos de producción, debido sobre todo al uso de insecticidas. La crisis ha hecho que éstos se utilicen masivamente, con aplicaciones cada 2-3 días, y en algunos casos diarias, lo cual provoca un incremento en el riesgo de residuos en alimentos y agua, de intoxicaciones laborales, de disminución de enemigos naturales y de resistencia, cuyo valor es prácticamente imposible de medir (Hilje 1996)

2.2 Los geminivirus

2.2.1. Generalidades. Las enfermedades causadas por estos virus se conocen desde hace muchos años, pero su etiología se aclaró apenas en 1979, cuando se les consideró como un nuevo grupo, por sus características morfológicas y químicas especiales. Las partículas virales son casi isométricas, formando parejas (Brunt 1992). Estos virus tienen cápsides proteicas icosaédricas gemelas, apareadas, donde se encuentra el genoma viral, constituido de ADN simple, de banda circular (Harrison 1985). Poseen dos componentes, denominados A y B; en el ADN del primero se determina la replicación y en el segundo la translocación. Las partículas que los caracteriza son pequeñas, de 18 - 20 nm y de un peso molecular que varía entre 27000 y 32000 daltons por unidad o capsómero, según el geminivirus de que se trate (Harrison 1985, Stanley 1985, Czosnek *et al.* 1988a). Están formados por partículas de nucleoproteínas las que contienen un 80% de proteína y 20% de ADN (Goodman 1981). La molécula esta conformada por 2265 a 3200 nucleótidos, dependiendo del geminivirus que se trate (Stanley 1985). Su característica biológica más importante es su diversidad molecular. Distintos geminivirus pueden infectar el mismo cultivo en diferentes regiones geográficas (Ramírez y Maxwell 1995).

Los geminivirus no son transmitidos por medio de semillas, ni mecánicamente, sino a través de insectos (Bock 1982), como los homópteros, sobresaliendo las familias Aleyrodidae, Cicadellidae y

Membracidae, y *B. tabaci* como su principal vector (Harrison 1985) Los adultos de *B. tabaci* transmiten 19 tipos de virus, de los cuales 15 son geminivirus (Brunt 1992). Los geminivirus que transmite dicho insecto causan al menos 40 enfermedades en hortalizas y cultivos textiles, mundialmente (Brown 1994)

2.2.2. Relación geminivirus-planta-vector. La relación entre los virus y sus vectores no consiste simplemente de una transmisión mecánica de las partículas virales. Los virus son por lo general muy específicos en su relación con un grupo taxonómico y en la mayoría de los casos su transmisión depende de una sola especie de insecto (Lastra 1993).

Según la persistencia del virus en el vector y la habilidad de éste como transmisor del patógeno, se han caracterizado los siguientes tipos de transmisión viral: no persistente, semipersistente y persistente. Esta última puede ser circulativa o propagativa (Agrios 1995). La transmisión de virus por *B. tabaci* se considera como persistente-circulativa (Duffus 1987). Para una transmisión eficiente de la mayoría de geminivirus lo óptimo es un período de alimentación-adquisición de 2-24 h, seguido por un período de alimentación-inoculación de 2-3 días (Duffus 1987, Lastra 1993). No existe multiplicación de los virus en el insecto y no hay evidencias que la madre pueda transmitir el virus a sus descendientes (Cohen 1990, Lastra 1993); las ninfas no contribuyen en la diseminación, por su hábito sedentario (Lastra 1993).

Estos virus inducen muchas enfermedades en los trópicos americanos, caracterizadas generalmente por un mosaico amarillo fuerte y enanismo de las plantas (Brown & Bird 1992, Lastra 1993). El mosaico amarillo del tomate puede ser transmitido por *B. tabaci* de manera persistente-circulativa. Las partículas virales son adquiridas durante la alimentación, luego circulan en el cuerpo, pasando del intestino a la hemolinfa, hasta llegar a las glándulas salivales, desde donde el insecto inocula eficazmente los virus en el sistema vascular de la planta, donde se multiplican (Uzcátegui y Lastra 1978, Lastra 1993). Los adultos adquieren el geminivirus una vez que se han alimentado (período de adquisición) de apenas 4 h de una planta enferma (Bonilla 1995). La multiplicación de los geminivirus se realiza en las

células del floema, directamente en el núcleo, formando masas densas, y pueden invadir gran parte del núcleo (Bock 1982, Lastra 1993).

En América Central, en tomate se han hallado cuatro geminivirus: el ToGVGA I, ToGVGA II, ToGVGA III (denominados tentativamente geminivirus del tomate de Guatemala, razas I, II, y III) y el ToYMV-CR (virus del mosaico amarillo del tomate, raza de Costa Rica) (Nakhla *et al.* 1994, Douglas P. Maxwell, 1995, University of Wisconsin-Madison, com. pers.) Los síntomas de éstos son un mosaico amarillo intenso, arrugamiento y reducción de tamaño de las hojas y enanismo de la planta, con disminución de la cantidad y el tamaño de los frutos (Lastra 1993).

Las plantas de tomate afectadas con el mosaico amarillo del tomate presentan diferentes grados de enanismo y de severidad de los síntomas según la etapa fenológica en que son infectadas (Acuña 1993). Son muy sensibles a la infección viral durante las primeras semanas de desarrollo y hay muerte si ésta sucede muy temprano (Anzola y Lastra 1978, Lastra 1993, Schuster *et al.* 1996). En consecuencia, cualquier método de control de la enfermedad debe fundamentarse en evitar la infección durante este período crítico, estimado en las seis primeras semanas; a partir de esta etapa, una infección con el mosaico amarillo del tomate resulta en reducciones leves del rendimiento (Franke *et al.* 1983, Acuña 1993).

La diversidad, tipo y severidad de los síntomas dependen de la interacción entre el virus (puede afectar las razas de un virus) y del genotipo de la planta hospedante, así como de las condiciones climáticas. Cuando un virus tiene dos razas diferentes, éstas pueden inducir síntomas muy diferentes al mismo cultivo y el mismo virus puede producir distintas reacciones en dos especies distintas (Hollings 1985). Una vez infectado, el insecto inyecta con la saliva las partículas virales en las células del floema (Lastra 1993), donde se multiplican y desplazan por toda la planta en menos de 24 h (Rivas Platero *et al.* 1995b).

2.2.3. Efectos anatómicos y fisiológicos de los virus en las plantas. Los virus fitopatógenos inducen en sus hospedantes diferentes tipos de síntomas: mosaicos, manchas anulares, disminución del

tamaño, deformaciones foliares, clorosis; etc.; sin embargo estos síntomas varían dependiendo de la especificidad del virus, de la raza y de la especie o cultivar del hospedante sobre el cual este actuando (Agrios 1995, Schuster *et al.* 1996).

Los virus sólo se propagan en el interior de células vivas, induciendo a las células hospedantes a que formen más partículas virales. Su transporte dentro de la planta la hace de dos formas. Una es mediante plasmodesmos, que son estructuras tubulares de aproximadamente 20-30 nm de diámetro, que enlazan el citoplasma de una célula con otra (Smith 1972, Zaitlin y Hull 1987, Hull 1989, Flores 1994, Agrios 1995); en los plasmodesmos de plantas sanas no se permite el tránsito de material infeccioso, por lo que el geminivirus codifica una proteína que posiblemente modifica la estructura del plasmodesmo, para que se efectúe su movimiento de célula a célula (Fraser 1987, Godefroy-Colburn *et al.* 1990). La otra forma es por medio del floema, que los transporta con rapidez a grandes distancias, al parecer en los tubos cribosos, por lo que se mueven a una velocidad alta (Castaño-Zapata 1994).

El ácido nucleico del virus es el determinante de la enfermedad (Agrios 1995). En muchos casos hay plantas que contienen concentraciones del virus mayores que otras, pero con síntomas más moderados que aquellas con una concentración baja. Esto indica que las enfermedades virales de las plantas no se deben exclusivamente al agotamiento de los nutrientes que el virus ha utilizado para automultiplicarse, sino a otras consecuencias más indirectas de la acción del virus sobre el metabolismo del hospedante (Agrios 1995).

Las condiciones fisiológicas de la planta son muy importantes, ya que habrá diferentes respuestas a la infección. Entre ellas se encuentran: la total inmunidad al virus, al no replicarse aún cuando haya entrado en la célula; que el virus se replique al iniciar la infección de las células, pero no sean inoculadas las células vecinas; y la susceptibilidad total, donde la mayoría de las células de la planta se infectan (Zaitlin y Hull 1987).

Entre los efectos que causan los virus sobre la fisiología de la planta se encuentran: la disminución de la fotosíntesis (pudiendo llegar a 75-80% de reducción de la capacidad fotosintética de la planta infectada) (Goodman *et al.* 1967); la reducción del nivel de clorofila por hoja; el número de moléculas de clorofila y el área foliar por planta; la reducción de la cantidad de reguladores de crecimiento (hormonas) en la planta; la disminución del nitrógeno soluble, durante la rápida síntesis del virus; la drástica reducción del nivel de carbohidratos de los tejidos infectados por el mosaico (Castaño-Zapata 1994, Agrios 1995)

La presencia de estructuras esféricas con un centro menos denso en plantas infectadas por geminivirus, llamadas anillos fibrilares, han sido asociados con el núcleo de las células floemáticas; sin embargo, su función en la replicación viral no está bien comprendida (Lastra y Gil 1984). En frijol, se ha observado que las primeras manifestaciones citopatológicas es la aparición de anillos fibrilares en los núcleos antes de que la planta muestre los síntomas externos de la enfermedad; al avanzar la infección, los anillos se encuentran asociados con masas granulares formadas por el material genético de los geminivirus (Lastra y Gil 1984). De igual manera, en estudios con microscopio de luz en los tejidos de plantas infectadas por cinco geminivirus diferentes se observaron inclusiones nucleares, así como anillos fibrilares en las células del floema (Christie *et al.* 1986). Las células del floema de hojas de tomate infectadas con el virus del mosaico amarillo presentaron cambios notorios en la morfología del núcleo, vistas al microscopio electrónico seis días después de la inoculación realizada mecánicamente por *B. tabaci*. Los cambios más evidentes fueron hipertrofias nucleares, las cuales contenían largas masas de partículas virales y anillos fibrilares; estos cambios también fueron observados en las células del mesófilo (Lastra y Gil 1981).

2.3 Efectos de la fertilización sobre la atenuación de virosis

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

En la manipulación de la nutrición para aumentar la resistencia a las enfermedades deben observarse varios aspectos: la disponibilidad de los nutrimentos es más importante que su cantidad total. El daño o predisposición impuesta por deficiencias tempranas o desbalances, puede no ser compensado por aplicaciones posteriores. El estrés por nutrimentos causado por enfermedades puede compensarse parcialmente por incrementos de los niveles de nutrimentos disponibles (Huber 1980). La disponibilidad de elementos minerales y su efecto en las enfermedades depende de la forma y solubilidad en que éstos se encuentren, para que sean aprovechados eficientemente. Hay factores ambientales que influyen en tal disponibilidad, como el pH, humedad del suelo, competencia de malezas, secuencia de cultivos, actividad microbiana, temperatura, aireación, lixiviación, fijación de nutrimentos y uso excesivo de herbicidas (Huber 1980, Malavolta 1989).

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

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

La nutrición influye sobre la velocidad de crecimiento y la rapidez de las plantas para defenderse del ataque de los patógenos (Agris 1995); las nutricionalmente deficientes tienen menos oportunidad de sobrevivir al ataque del patógeno. A pesar de esto, los elementos individuales difieren en sus efectos en las relaciones patógeno-hospedante; estas diferencias son de tipo bioquímico, de los papeles esenciales y no esenciales de los elementos, y los diferentes requerimientos del hospedante y el patógeno (Graham 1983). Se supone que, en alguna medida, la nutrición puede modificar la expresión de la enfermedad, la función de los tejidos para acelerar o disminuir la velocidad de la patogénesis, o la virulencia y capacidad de los patógenos para sobrevivir (Huber 1980). Es así como la respuesta de plantas enfermas a la nutrición mineral frecuentemente se da hacia la moderada o alta resistencia, mientras que en las plantas sin nutrición adecuada puede ser hacia alta resistencia o alta susceptibilidad al patógeno (Huber 1980).

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

La influencia de la nutrición mineral sobre las enfermedades virales ha sido poco estudiada (Martin 1976). Se ha demostrado que la nutrición de las plantas enfermas es eficaz para aminorar la expresión de los virus. En plantas enfermas pero con crecimiento vigoroso, los síntomas se manifiestan más, pero hay mayor respuesta a la aplicación de nutrimentos adicionales, en comparación con plantas sanas sin dosis adicionales de fertilizantes. Tal respuesta se expresa en mayor crecimiento y vigor, en la reducción de la severidad de la enfermedad (enanismo, encrespamiento foliar, mosaico), y en la buena floración y fructificación (Kaplan y Bergman 1985).

La infección por virus puede alterar el contenido elemental de las plantas hospedantes. Dependiendo de la etapa fisiológica en la cual la planta es infectada e inoculada con el virus, se afecta el crecimiento, rendimiento y expresión de síntomas. Sin embargo, hay casos en que óptimas condiciones nutricionales predisponen más las plantas a los daños producidos por virus (Király 1976, Kaplan y Bergman

1985) Las enfermedades virales disminuyen el nitrógeno soluble, durante la rápida síntesis del virus. Algunos sistemas virus-hospedante pueden utilizar el 33-65% del nitrógeno total de la planta. Generalmente la cantidad de compuestos nitrogenados no virales en las plantas enfermas, se hallan en menor cantidad que la de las plantas sanas, quizás debido a que el virus se forma a expensas de los niveles normales de tales compuestos de las plantas sanas. No obstante, cuando a la planta se le proporciona una elevada fertilización con nitrógeno, la cantidad total de dicho nutrimento en plantas enfermas puede ser mucho mayor que en plantas sanas, especialmente después de haber finalizado la fase de rápida síntesis viral (Agrios 1995).

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

Algunos nutrimentos específicos pueden promover el desarrollo de una enfermedad, mientras que otros pueden reducirla (Fry 1982). Hay mayor susceptibilidad de ciertas plantas a enfermedades virales cuando la cantidad de fósforo es mayor, que cuando éste es deficiente (Black 1968). Kaplan y Bergman (1985) documentaron que la nutrición de plantas infectadas con virus puede atenuar sus efectos, en comparación con aquellas con nutrición deficiente.

Padilla (1995) en plantas de tomate infectadas con el geminivirus ToYMV-CR logró la atenuación del impacto de la enfermedad mediante la fertilización alta en fósforo (1800 kg/ha) al suelo. La respuesta de las plantas inoculadas fue evidente, al lograr mayor crecimiento, vigor y rendimientos de hasta 24 t/ha, cercanos al rendimiento promedio nacional, pero con poco tomate de primera clase. Jiménez (1996), con la aspersión de una hoja de la planta de tomate con el fosfato K_2HPO_4 promovió el crecimiento, aumento en el diámetro del tallo y disminuyó la severidad del mosaico amarillo del tomate, lo cual quizás se debió a que dicha aspersión activó mecanismos de defensa, logrando que las plantas alcanzaran un desarrollo importante; se deduce que el fosfato indujo una respuesta sistémica, ya que

se aplicó en una sola hoja y el efecto favorable se observó en toda la planta. Reuveni *et al* (1992), encontraron que además del papel que juegan como agentes inductores de resistencia contra el mildiú polvoriento, una sola aplicación de K_2HPO_4 sobre la hoja 1 de plantas de pepino dos o cuatro días antes de la inoculación con el patógeno, incrementó el crecimiento de la planta de pepino, a pesar de la infección.

El fósforo y el nitrógeno son parte esencial de la proteína viral, por lo que al variar éstos se afectan la síntesis y multiplicación de los virus. El magnesio aplicado a dosis altas reduce la severidad de la infección del TMV en tabaco, pero su escasez aumenta la concentración del virus (Seaker *et al* 1982). La magnitud del daño depende del sitio de la planta donde éste se manifieste y la forma como se expresen los daños. Si el número de lesiones por hoja es tomado como criterio, habrá grandes diferencias; si se basa en el número de lesiones por unidad de área foliar, las diferencias, aunque presentes, son menos marcadas. El número de sitios de infección de plantas de melón inoculadas con virus del mosaico del melón (CMV), varió según la nutrición de la planta; además, cantidades elevadas de fósforo, calcio, y magnesio, con bajas cantidades de potasio, incrementan la susceptibilidad al virus, pero con bajo fósforo y alto potasio ésta se reduce (Martin 1976)

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

2.4 Efecto de la densidad del vector

Para controlar a *B. tabaci* en tomate se han usado insecticidas, pero con resultados insatisfactorios, a pesar que existen productos que reducen en más de 90% los números de huevos,

ninfas o adultos (Schuster *et al.* 1989) Esto se explica, en gran medida, porque la diseminación de la virosis se presenta rápidamente, pudiendo alcanzar el 100% de las plantas, aún con menos de un adulto por planta, en promedio (Hilje y Cubillo 1995)

Convencionalmente, se ha asumido que la densidad de adultos virulíferos por planta es irrelevante en cuanto a la severidad de la enfermedad y la disminución de los rendimientos (Dr. Henryk Czosnek 1995, Universidad Hebrea, Jerusalén, com. pers.) No obstante, Salazar (1996) determinó que al aumentar la densidad de adultos virulíferos de *B. tabaci* la severidad del mosaico amarillo se incrementó y los rendimientos disminuyeron. Además, aunque datos previos de invernadero indicaron que altas dosis de fósforo aplicadas al suelo pueden atenuar el impacto del mosaico amarillo, con valores satisfactorios de rendimiento (Padilla 1995), la experiencia en campo no coincidió con dichos datos (Cubillo *et al.*, inédito) posiblemente porque en el campo los vectores inoculan a las plantas en forma reiterativa, mientras que en el invernadero, experimentalmente, lo realizaron una sola vez.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 Localización del experimento. Los semilleros se colocaron en la estación experimental La Montaña, del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) Está ubicada en Turrialba, Cartago, Costa Rica, a 9°52'N y 83°38'O, a 590 msnm, en la zona de bosque húmedo premontano (Tosi 1969). Su temperatura y precipitación media anual fueron de 22°C y 2479 mm, respectivamente, la humedad relativa de 87% y la radiación solar de 11,82 uJ/m² (CATIE 1993). El experimento se desarrolló en un invernadero del CATIE. Las plántulas se trasplantaron a las macetas dentro del invernadero a los 22 días después de la siembra (dds).

3.2 Colonias de *B. tabaci* Se mantuvieron en un invernadero del CATIE, sobre plantas de tomate infectadas con el ToYMV-CR, las cuales fueron regadas, mantenidas y renovadas continuamente, para asegurar el crecimiento de las colonias virulíferas.

3.3 Manejo del cultivo. El semillero se ubicó en posición este-oeste, en un túnel cubierto con la malla fina Tildenet IN50 (Tildenet Ltd., Inglaterra), para evitar el ingreso de *B. tabaci* (Cubillo *et al.*, inédito). Se sembró la variedad Hayslip (Ferry Morse Company, EE. UU.), de crecimiento determinado, por trasplante. Se utilizaron cartuchos de papel periódico de 5 cm de diámetro y 9 cm de altura (Cubillo *et al.* 1994) y en cada uno se depositaron 3-4 semillas. Fueron cubiertos con sacos de nailon para mantener la humedad del suelo y asegurar la germinación. El sustrato utilizado fue una mezcla de suelo esterilizado, granza de arroz y abono orgánico en proporción 10:2:1, más 20 g del fertilizante de liberación lenta Osmocote (14-14-14, N-P-K) (Grace Sierra, EE. UU.) por kg de mezcla. El abono orgánico fue un compost rápido tipo "Bocashi", que contiene tierra de montaña, gallinaza, granza de arroz, carbón pulverizado, semolina de arroz y concentrado para ganado, en proporciones de 5:3:3:3:1:1, más cal y melaza (Miranda y Guerrero 1994). Se aplicó riego dependiendo de las condiciones de precipitación de la zona y se raleó a los 8 días después de la germinación (ddg), dejando una planta por cartucho.

El trasplante se realizó a los 22 días después de la siembra (dds). Las plantas se sembraron con el bloque de suelo (pilón) en macetas plásticas N° 2800, de 27 cm de diámetro y 25 cm de profundidad, con

capacidad de 21 l de suelo. Como sustrato se utilizó suelo proveniente de los terrenos del CATIE, al cual se le hizo un análisis completo (contenido de macro y micronutrientes, textura y porcentaje de materia orgánica) (Anexo 1). El suelo se desinfectó con Basamid (40 g/m^2), una semana antes del trasplante. Se utilizaron 50 macetas (cada una con cuatro plantas), espaciadas a 0,5 m entre sí y 1 m entre hileras, colocadas en el piso. Se realizaron deshierbas a partir de la 7ª hasta la última semana del experimento, las cuales dependían de la capacidad que mostraban las plantas en la producción de nuevos brotes.

3.4 Fertilización. En todos los tratamientos, los niveles de nitrógeno y potasio fueron de 400 y 300 kg/ha, respectivamente. El fósforo se aplicó en dos niveles (600 y 1800 kg/ha), según la curva de absorción del cultivo (Bertsch 1981) (Anexo 2). La aplicación de los fertilizantes se inició en el momento del trasplante, según cada tratamiento (Cuadro 1).

Cuadro 1. Dosis semanal de producto comercial de N-P-K (g de producto comercial) aplicado por maceta

	N	P ₂ O ₅	P ₂ O ₅	K ₂ O
sdt		600	1800	
0	0,940	0,685	2,054	0,2625
1	0,940	0,685	2,054	0,2625
2	5,639	4,110	12,324	1,0500
3	3,759	6,850	20,540	2,6250
4	1,252	1,370	4,108	1,0500
TOTAL	12,530	13,700	41,080	5,2500

Las fuentes de nutrientes de N, P y K fueron el nitrato de amonio (33,5%), triple superfosfato (46%) y cloruro de potasio (60%), respectivamente. Antes de cada aplicación se pesó el fertilizante y se individualizó en bolsas plásticas pequeñas para facilitar su aplicación en las macetas. Después de cada aplicación del fertilizante, éste se cubrió con el mismo suelo previamente esterilizado, como aporque a la planta.

Cada dos días se aplicó riego moderado, para evitar al máximo el lavado y salpique de suelo fuera de la maceta. La cantidad de radiación fotosintéticamente activa dentro del invernadero se midió con un autoporómetro, semanalmente, durante las primeras cuatro semanas después del trasplante (sdt). Los tutores se colocaron cuando las plantas medían 0,5 - 0,55 m en promedio, y este tutoreado se realizó cada vez que las plantas lo requirieron.

A los 18 ddt se hizo la primera fertilización foliar de micronutrientes, con Crop-Up™, a razón de 19 ml, más 7,5 g del fungicida Dithane y 1 ml del adherente Niufilm™; la segunda fertilización foliar se realizó a los 25 ddt y los productos aplicados fueron 7,5 ml de Kolatín, 11,25 g del fungicida Antracol™ y 1 ml de Niufilm™. En ambos casos se utilizó una bomba de espalda de 20 l. A los 32, 38 y 46 ddt se aplicó el bactericida biológico Kilol™ (5 ml/l) contra la maya (*Pseudomonas solanacearum*), en una unidad experimental. A partir de la fructificación se aplicó cal agrícola (Ca CO₃) a razón de 8 g por maceta, para controlar el “culillo del tomate”. También se aplicó el insecticida biológico Dipel™ (*Bacillus thuringiensis*) (5g/l) cada tres días, por una semana, contra el gusano perforador de los frutos (*Heliothis zea*).

3.5 Tratamientos y diseño experimental. Se evaluaron, como factores, dos niveles de fósforo (600 y 1800 kg/ha) y el número de inoculaciones del virus (1, 2, 3 y 4) en días consecutivos. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar, en un arreglo factorial 2 x 5, con cinco repeticiones y ocho tratamientos inoculados con el virus y dos sin inocular (Cuadro 2). La unidad experimental al inicio del experimento estuvo formada por cuatro plantas, quedando solo una por maceta al final. Los tratamientos testigos se ubicaron en un compartimento del invernadero, totalmente cubierto con la malla Tildenet IN50™.

3.6 Transmisión. Los tratamientos se inocularon con el geminivirus ToYMV-CR, con adultos virulíferos de *B. tabaci* colocados dentro de microjaulas plásticas (Serra 1996), por 48 h, en las plantas sanas. Estos provenían de plantas de tomate viróticas, de donde se tomaron al azar. Se colocaron cinco adultos por microjaula. Después de retirar las moscas de la última inoculación se hizo la aplicación de Lannate (2,5 cc/l) para controlar aquellos adultos que podrían haber escapado de las microjaulas y estuvieran en el invernadero.

Cuadro 2. Tratamientos evaluados en el experimento.

Tratamiento	Inoculación (ddg)	Fósforo (kg/ha)
T1	-	600
T2	-	1800
T3	22	600
T4	22	1800
T5	22, 23	600
T6	22, 23	1800
T7	22, 23, 24	600
T8	22, 23, 24	1800
T9	22, 23, 24, 25	600
T10	22, 23, 24, 25	1800

3.7 Variables de respuesta.

3.7.1 Altura. Semanalmente se midió la altura a todas las plantas, desde la base hasta la yema apical, con una regla graduada en centímetros. Si las plantas estaban bifurcadas, se escogió la "guía" de mayor altura.

3.7.2 Severidad. Semanalmente se registró el número de plantas con síntomas de virosis en cada unidad experimental, hasta los 62 ddt, las cuales se calificaron según la escala del Cuadro 3.

Cuadro 3. Escala para medir el índice de severidad del mosaico amarillo del tomate

Grado	Descripción
1	Leve amarillamiento de los márgenes de las hojas apicales.
2	Amarillamiento de hojas apicales y reducción del tamaño de hojas. Leve disminución del tamaño de la planta.
3	Disminución del tamaño de las hojas, enanismo de la planta y deformaciones foliares.
4	Acentuada disminución del tamaño de hojas, severa deformación foliar y enanismo de la planta.
5	Severo enanismo de la planta. Clorosis internerval en hojas y erección de ramas axilares.

Fuente: Rom *et al.* (1993)

3.7.3 Biomasa final. Al final de la cosecha se cortaron las hojas, tallos, frutos y raíces de todas las plantas, y se depositaron por separado en bolsas de papel. Se secaron a 70°C por dos semanas y después se seccionaron, para obtener el peso por estructura. De los frutos, se tomaron todos aquellos que estaban en crecimiento y no habían completado su madurez.

3.7.4 Rendimiento. La cosecha se inició a los 73 ddt y duró ocho semanas. La recolección se hizo a mano, de 1-3 veces por semana. El rendimiento (número y peso de todos los frutos) se clasificó según la siguiente escala (Kopper *et al.* 1991):

Clase I: Frutos mayores de 160 g, diámetro mayor a 7cm., sanos y con buena apariencia.

Clase II: Frutos de 120 - 160 g, diámetro de 5,5 - 7 cm, sanos y con buena apariencia.

Clase III: Frutos menores de 120 g, y 5,5 cm de diámetro, generalmente sin grado de madurez definido.

3.7.5 Estudios histológicos. Se tomaron muestras de raíz, tallo y hojas a los 5, 15, 30 días después de la inoculación (ddi) en todos los tratamientos, incluyendo el testigo. Estos materiales fueron fijados en FAA o glutanaldehído al 2,5%; éste contiene 50 ml de Etanol (95%), 35 ml de agua destilada, 10 ml de formalina y 5 ml de ácido acético. Luego se colocaron en una cámara de vacío por dos semanas aproximadamente, para extraer el aire de los tejidos. Se deshidrataron en una serie ascendente de etanol (50-70-80-90-95-100-100) a razón de 1 h en cada alcohol, se infiltraron en historresina a 4°C durante 12 h y luego se prepararon los bloques para realizar los cortes en micrótopo de resina, en secciones de 5 µm de grosor. Los cortes fueron colocados sobre láminas portaobjetos a las cuales previamente se les había colocado una gota de agua esterilizada. Después fueron colocados en una plancha eléctrica a 65°C para que el material se estirara y fijara en la lámina. Los cortes fueron teñidos con azul de toluidina para resaltar las estructuras internas de cada uno de los tejidos muestreados y observarlos al microscopio de luz.

3.8 Análisis estadístico.

El modelo estadístico fue el siguiente: $X_{ijk} = \mu + \beta_i + D_j + I_k + DI_{jk} + \varepsilon_{ijk}$

donde:

X_{ij} = Variable aleatoria observable

μ = Media general

β_i = Efecto del i-ésimo bloque

D_j = Efecto de la j-ésima dosis

I_k = Efecto de la k-ésima inoculación

DI_{jk} = Efecto de la interacción de la j-ésima dosis y la k-ésima inoculación

ε_{ijk} = Errores aleatorios distribuidos normalmente, con promedio cero, varianza δ^2 y no correlacionados

r = Número de repeticiones o bloques

k = Número de tratamientos

Se realizaron análisis de varianza y pruebas de comparación de medias, mediante la prueba de Duncan, para las siguientes variables: índice de severidad, altura de la planta y rendimiento. Se utilizó el programa para análisis estadístico SAS (SAS Institute 1985).

El análisis de la incidencia que se basó en el número de plantas enfermas con respecto al total, se representó mediante la ubicación de parejas ordenadas (tiempo, enfermedad) en un sistema de ejes cartesianos. La figura resultante fue la curva de progreso de la enfermedad, que mostró el crecimiento de la enfermedad a través del tiempo en que ocurrió la epidemia por medio del cálculo del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE); ésta se expresa en unidades de proporción de enfermedad-día. El ABCPE cuantifica el comportamiento de las enfermedades, y es muy útil para comparar tratamientos (Rivas-Platero, 1996). La incidencia, desde el punto de vista epidemiológico, se consideró como continuo. La fórmula matemática es: $ABCPE = \Sigma(Y_i + Y_{i+1})/2 \times dt_i$, donde:

Y_i = Proporción de enfermedad (incidencia o severidad) afectada en la i-ésima observación

t_i = Tiempo(días) después de la inoculación en la i-ésima observación.

Σ = Sumatoria de n observaciones.

IV. RESULTADOS

Los semilleros se mantuvieron aislados y las plantas estuvieron cubiertas con la malla fina, lo cual evitó el ingreso y la inoculación por *B. tabaci* durante las primeras tres semanas del cultivo. El porcentaje de germinación en el túnel fue de un 90%. Se sembró suficiente material, por lo que no hubo que resembrar en los cartuchos donde no ocurrió la germinación. En los tratamientos testigos se realizaron inspecciones semanales, y nunca se observó la presencia de adultos de *B. tabaci*. Durante las cuatro primeras semanas los valores de radiación solar (luminosidad) obtenidos dentro del invernadero fueron de 92 - 95% en comparación con el 100% del exterior.

Altura. Al ser trasplantadas, las plantas median 19,95 cm, en promedio. La altura mantuvo una tendencia ascendente en todos los tratamientos, mayor en los testigos, los cuales superaron a los demás (Fig 1 , 2). Hubo diferencias entre tratamientos por cada semana evaluada (Anexo 4), con valores generales menores ($p < 0,05$) en los tratamientos inoculados que tenían 600 kg de P/ha (T3, T5, T7 y T9) (denominados aquí 600 P), los cuales mostraron menor crecimiento desde la 6 hasta la 15 sdt (Fig 1). Los testigos (T1 y T2) mantuvieron desde la 2 sdt y durante todo el experimento los valores más altos, con diferencias ($p < 0,05$) con el resto de los tratamientos. El registro de datos se suspendió en la 15ª sdt. En las últimas tres semanas los valores permanecieron constantes en todos los tratamientos. Al final, los tratamientos inoculados que tenían 1800 kg de P/ha (T4, T6, T8 y T10) (denominados aquí 1800 P) en general superaron ($p < 0,05$) a los tratamientos de 600 P, con excepción de T10.

Severidad. Los tratamientos testigos (T1 y T2) permanecieron asintomáticos durante todo el experimento, mientras que en los tratamientos inoculados la incidencia de la enfermedad fue de 100% a la 3 sdt. Para esa fecha las plantas que recibieron una sola inoculación presentaban síntomas leves, mientras que en los tratamientos con cuatro inoculaciones (T9 y T10), las plantas manifestaron un mosaico más severo.

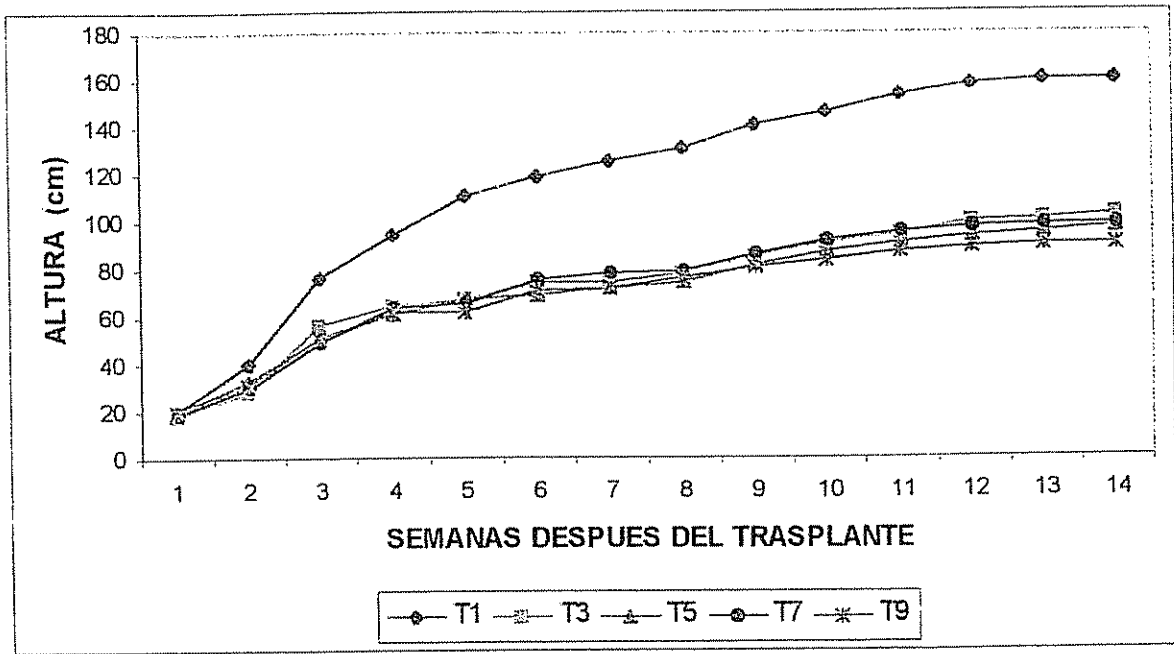


Figura 1. Promedios semanales de altura durante el experimento, para los tratamientos con 600 kg P/ha. CATIE, Turrialba 1997.

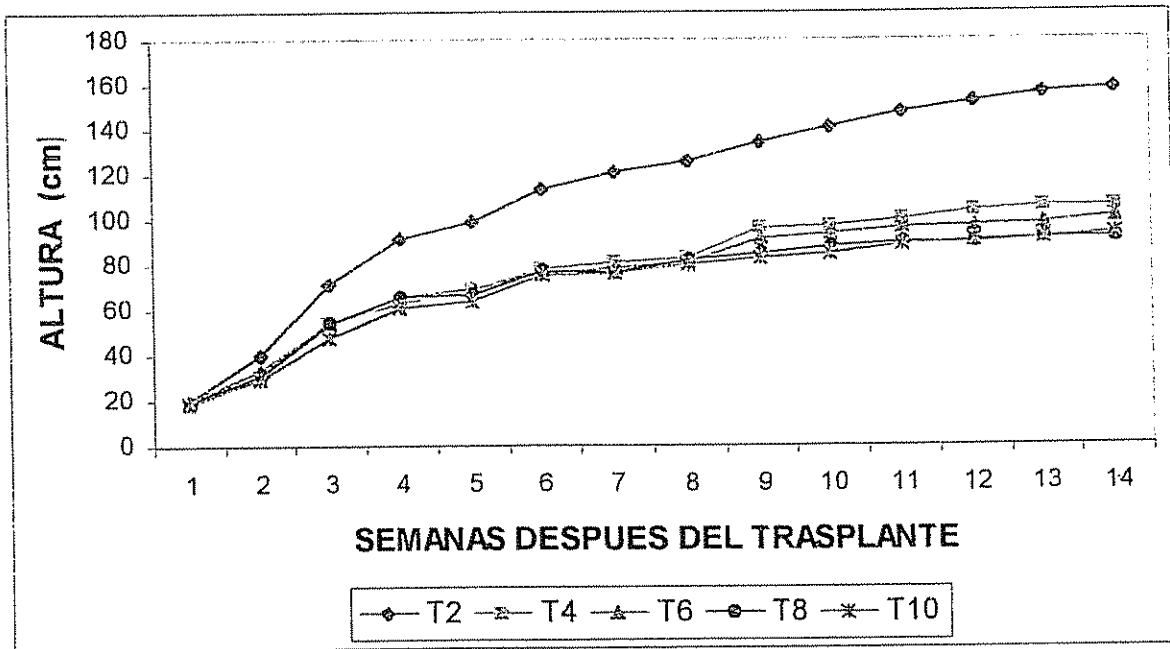


Figura 2. Promedios semanales de altura durante el experimento, para los tratamientos con 1800 kg P/ha. CATIE, Turrialba 1997.

En cuanto al índice promedio de severidad durante el experimento, hubo diferencias ($p < 0,05$) entre los tratamientos testigos y los no inoculados, sin embargo, no hubo diferencias marcadas entre los tratamientos inoculados (Cuadro 4, Anexo 5), con excepción de dos grupos que lo hicieron entre sí (T3, T4 y T8) y (T9 y T10), pero no con el resto. En todos los tratamientos los síntomas alcanzaron el grado máximo, el cual se logró más rápido en T9 y T10, en la 11 sdt, y más tarde en T3, T4 y T8 (Anexo 5). El mayor contraste se dio entre los de una (T3 y T4) y cuatro inoculaciones (T9 y T10) (Cuadro 5). Además, no hubo diferencias entre los tratamientos de 600P y 1800P (Cuadro 5)

El ABCPE difirió entre los tratamientos ($p < 0,05$), con excepción de T3 y T8, y de T9 y T10 (Cuadro %). Fue mayor en los de 600P, con excepción de los tratamientos con cuatro inoculaciones (T9 y T10), en los que fue equivalente. Los valores máximos se obtuvieron en estos dos tratamientos, los cuales también mostraron la máxima expresión de la virosis durante el experimento (Fig 3 y 4).

Cuadro 4. Area bajo la curva de progreso de la enfermedad total (ABCPE) e índice promedio de severidad (I.S.) para los tratamientos inoculados. CATIE, Turrialba. 1997.

Tratamientos	LS.	ABCPE
T3	2.71 b	248.5 e
T4	2.57 b	234.5 f
T5	3.50 ab	325.5 b
T6	2.78 ab	255.5 d
T7	3.14 ab	290.5 c
T8	2.71 b	248.5 e
T9	3.71 a	346.5 a
T10	3.71 a	346.5 a

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

Cuadro 5. Contrastes ortogonales para el índice promedio de severidad de varios grupos de tratamientos. CATIE, Turrialba. 1997.

Contraste	DF	Contraste SS	Valor F	Prob>F
(T1-T2) vs. resto	1	18367.18	11.15	0.0021
600 P vs. 1800 P	1	1633.11	3.25	0.1984
(T3-T4) vs. (T9-T10)	1	4121.08	5.47	0.0214

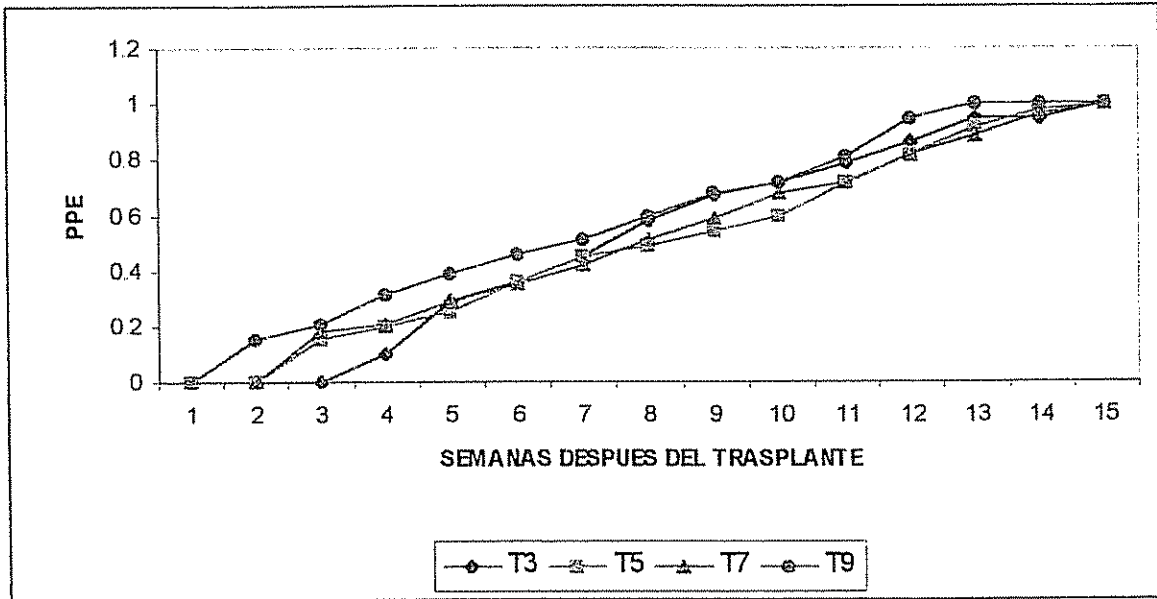


Figura 3. Curvas de progreso de la enfermedad, según la proporción de plantas enfermas (PPE) por fecha, para los tratamientos con 600 kg P/ha. CATIE, Turrialba. 1997.

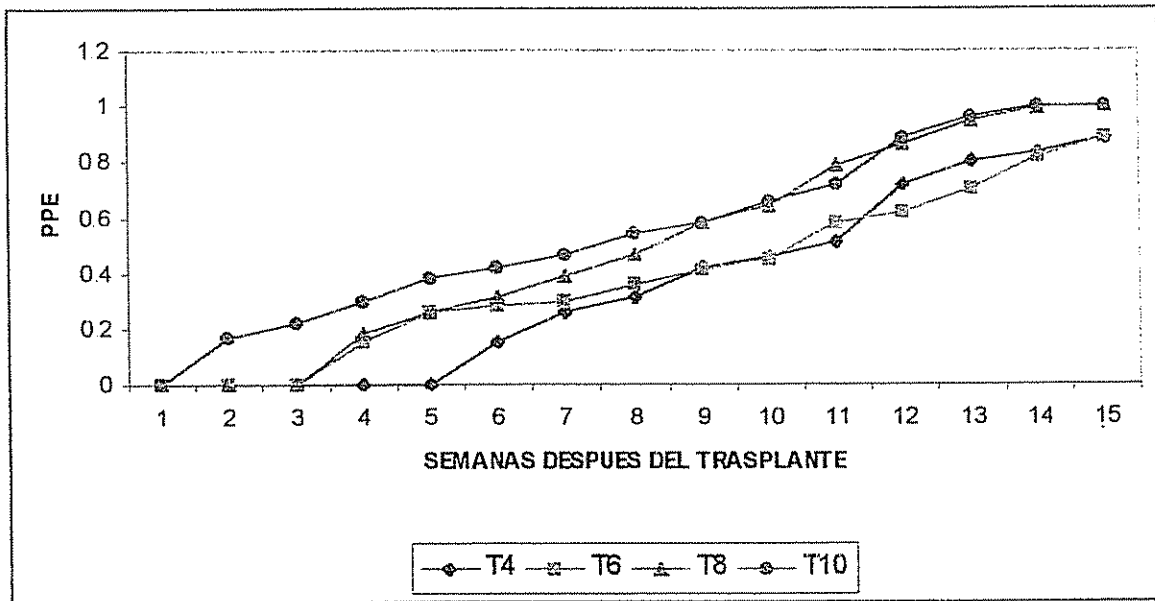


Figura 4. Curvas de progreso de la enfermedad, según la proporción de plantas enfermas (PPE) por fecha, para los tratamientos con 1800 kg P/ha. CATIE, Turrialba. 1997.

Biomasa final. Los mayores valores de peso seco fueron los de tallo y hojas, seguidos por los de raíces y por último los de frutos (Anexo 6) Hubo diferencias en todas las estructuras evaluadas, así como con el peso total ($p < 0,05$), en el cual tuvieron mayores valores los tratamientos con una inoculación (T3 y T4), pero sin difererir de los demás. Los mayores contrastes se presentaron entre los de una (T3 y T4) y cuatro inoculaciones (T9 y T10), así como entre los testigos (T1 y T2) y el resto (Cuadro 6). No hubo fiferencias entre los tratamientos de 600P y 1800P

Rendimiento. El número de frutos de las tres clases comerciales, así como el total, variaron entre tratamientos ($p < 0,05$) (Anexo 7), aunque muy pocos tratamientos, como T6 y T7, se diferenciaron con mayor claridad, y tuvieron el mayor y el menor valor, respectivamente. Predominaron los frutos de clase III en todos los tratamientos, seguidos por los de clase II en todos, con excepción de T1 y T4, en que predominaron los de clase I (Fig 5, Anexo 7). T6 no presentó frutos de clase I en ninguna de las repeticiones, mientras que T2 obtuvo el mayor valor, sin diferenciarse de los demás, salvo de T6. Para la clase II, T3 y T1 tuvieron el mayor y el menor valor, respectivamente

Por su parte, ni el rendimiento total ni el de la clase II variaron entre los tratamientos ($p > 0,05$), pero sí los de las clases I y III (Anexo 8). Los mayores valores del rendimiento total se obtuvieron en los 1800P, pero las diferencias fueron leves ($p > 0,05$) (Cuadro 7, Fig. 6); los testigos no contrastaron con los tratamientos inoculados, ni tampoco los de una y cuatro inoculaciones. La regresión del índice promedio de severidad sobre el rendimiento total fue cuadrática para los tratamientos T3, T4, T5 y T6, y lineal para T7, T8, T9 y T10 (Cuadro 8)

Cuadro 6. Contrastes ortogonales para la biomasa total de varios grupos de tratamientos. CATIE Turrialba, 1997.

Contraste	DF	Contraste SS	Valor F	Prob>F
(T1-T2) vs. resto	1	19331.88	21.16	0.0001
600 P vs. 1800 P	1	1963.14	2.15	0.1514
(T3-T4) vs. (T9-T10)	1	6181.48	6.77	0.0134

Cuadro 7. Contrastes ortogonales para rendimiento total de varios grupos de tratamiento CATIE, Turrialba. 1997.

Contraste	DF	Contraste SS	Valor F	Prob>F
(T1-T2) vs. resto	1	67229.68	1.35	0.2522
600 P vs. 1800 P	1	1115.43	0.02	0.8817
(T3-T4) vs. (T9-T10)	1	5407.45	0.11	0.7433

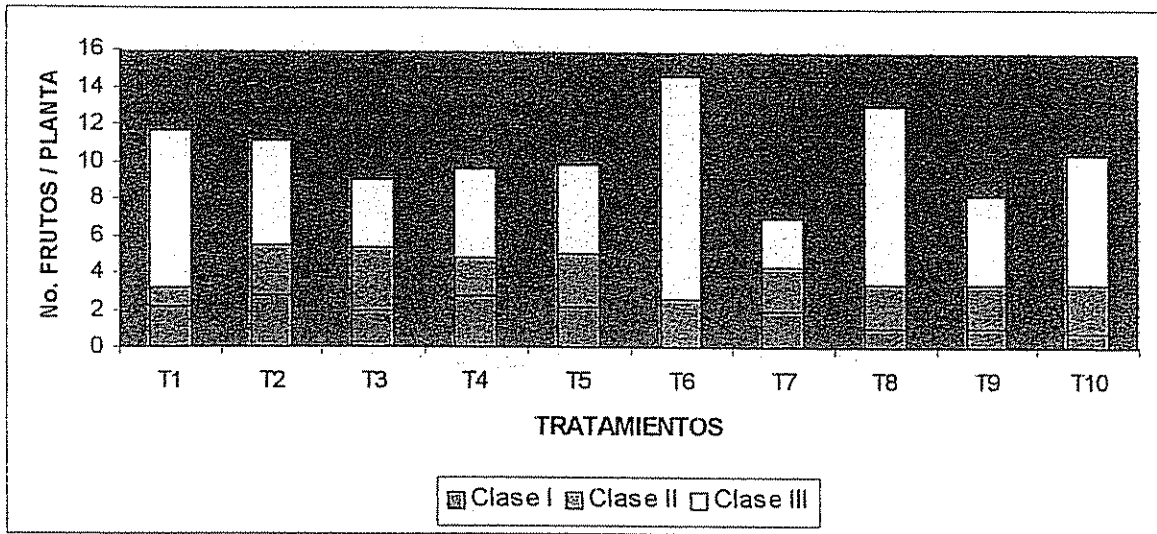


Figura 5. Promedio del número de frutos, por clases comerciales, según los tratamientos. CATIE, Turrialba, 1997.

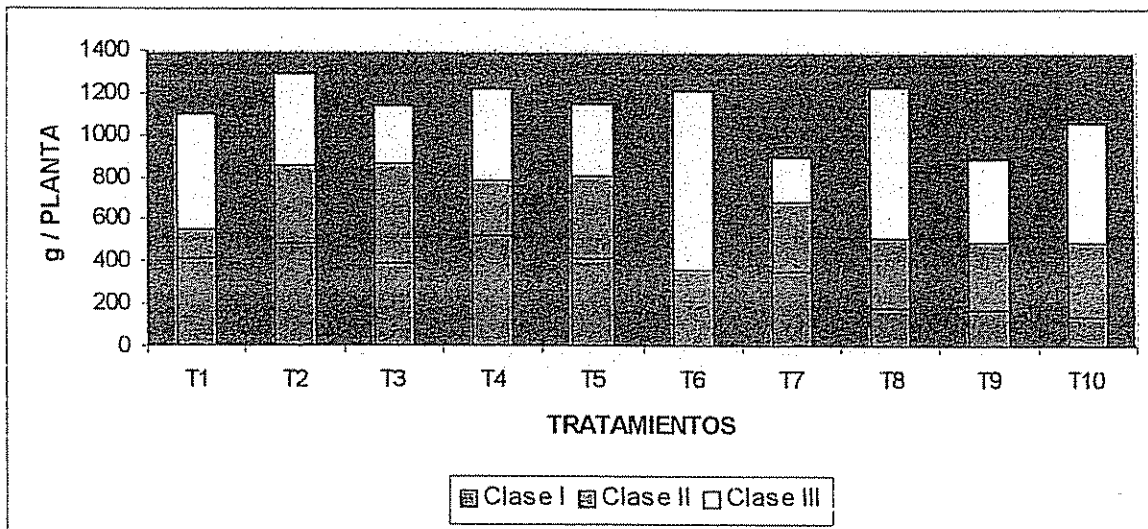


Figura 6. Promedios del rendimiento, según las clases de frutos por clases comerciales, para cada tratamiento. CATIE, Turrialba, 1997

Cuadro 8. Ecuaciones de la regresión del índice promedio de severidad (x) sobre el rendimiento (y) total según los tratamientos. CATIE, Turrialba 1997.

Tratamientos	Ecuación	R ²	P
T3	$Y=0.056+0.034X-0.065X^2$	0.70	0.013
T4	$Y=0.082+0.029X-0.065X^2$	0.87	0.011
T5	$Y=0.086+0.016X-0.004X^2$	0.86	0.009
T6	$Y=0.082+0.018X-0.005X^2$	0.87	0.009
T7	$Y=0.086-0.008X$	0.92	0.002
T8	$Y=0.120-0.012X$	0.89	0.009
T9	$Y=0.116-0.015X$	0.95	0.001
T10	$Y=0.122-0.015X$	0.93	0.003

Estudios histológicos.

RAIZ.

Las secciones transversales de raíz, realizadas tanto en los testigos como a los tratamientos en los diferentes muestreos no mostraron diferencias, en todos los cortes se observó una peridermis con una capa de felema y una capa delgada de felodermis; el felema se observó compuesto por células muy colapsadas a diferencia de las células de las felodermis o de las células parenquimáticas que formaron la corteza, estas últimas no presentan un tamaño uniforme, y son células sin contenido, aunque en ocasiones se aprecia un núcleo grande. Hacia el interior se desarrolla el tejido vascular, caracterizado por un xilema de elementos conductores anchos y rayos delgados. En algunos cortes se apreció un precipitado granuloso en algunos de los elementos conductores del xilema, situación que se vuelve más frecuente en los tratamientos T7, T8, T9 y T10. El floema se caracteriza por presentar elementos conductores grandes, con placas cribosas y células compañeras fácilmente identificables, apreciándose frecuentemente idioblastos con precipitado cristalino (fig. 7A, B).

El cambium vascular que origina ambos tejidos está compuesto por células pequeñas, rectangulares en sección transversal y predominio de divisiones periclinales y anticlinales, no hay formación de médula (fig. 7 A).

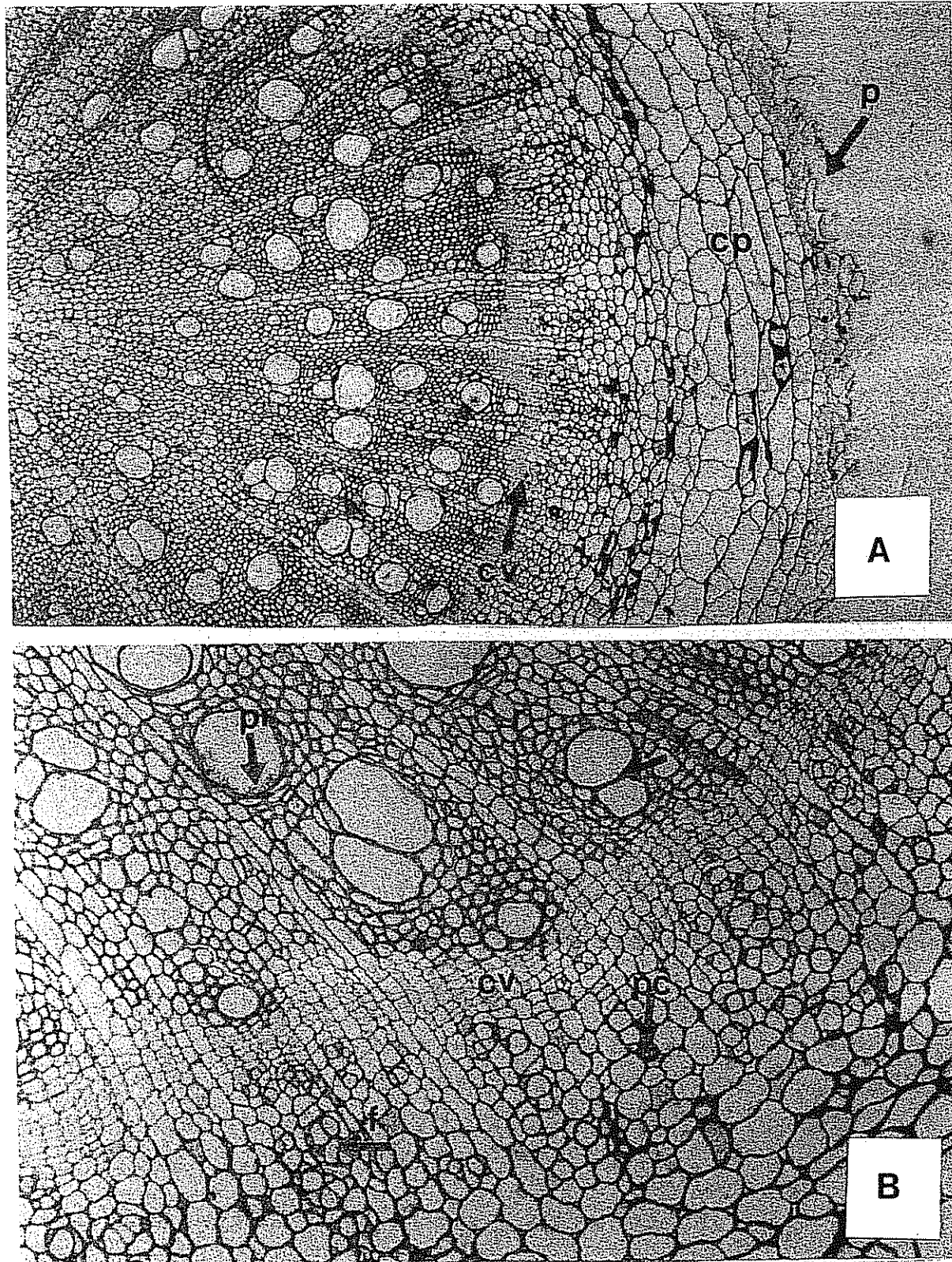


Figura 7. Sección transeversal de raíz. (A) Obsérvese la peridermis (p), capa cortical (cp), cambium vascular (cv). (B) Detalle de la sección transversal de raíz, obsérvese xilema (x), floema (f), precipitado en el elemento conductor (pr), rayos (r), cambium vascular y placa cribosa (pc) CATIE. Turrialba, 1997.

TALLO.

En todos los muestreos realizados en el testigo y los tratamientos no hubo diferencias, todas las secciones transversales de tallo en crecimiento primario mostraron una epidermis de células grandes y rectangulares con gran cantidad de tricomas glandulares y no glandulares; se observaron estomas que sobresalen de la superficie, dejando una cavidad subestomática grande, por debajo de la epidermis se desarrolla una capa uni o biseriada de células parenquimáticas con núcleos y nucleolos prominentes y espacios intercelulares grandes, dando la apariencia de un mesófilo esponjoso; dichas células poseen además gran cantidad de cloroplastos; interna a esta capa, se desarrolla una capa multiseriada de colénquima angular; por debajo de la cual, se aprecia el desarrollo de un parénquima con contenido de almidón y núcleos y nucleolos grandes (fig 8 A, B, C).

Hacia el interior se observan haces vasculares bicolaterales; en ellos, el metaxilema lo constituyen células anchas, a veces con un precipitado granuloso en su interior, el floema, ubicado hacia el interior y el exterior del xilema, constituido por elementos conductores anchos, células compañeras y placas cribosas que se observaron con facilidad (fig 8B). Empieza a diferenciarse un anillo continuo de cambium vascular que marca los inicios del desarrollo del crecimiento secundario, en la región comprendida entre el cambium vascular y las células de xilema inmaduro, se desarrollan cavidades aparentemente por lisis celular, dichas cavidades mantienen estructuras de espacios aéreos grandes, en el interior del tallo se aprecia una médula parenquimática sin contenido y grandes espacios intercelulares (fig. 8 D).

Los cortes realizados a tallos en crecimiento secundario de los mismos materiales anteriores, permitieron observar la misma organización interna mostrada por los tallos en crecimiento primario, con excepción del anillo continuo de cambium vascular, y por lo tanto de xilema y floema; se aprecia además una capa de fibras junto al floema (fig. 9A, B). Es común observar restos del tejido vascular propios del crecimiento primario; al igual que en los cortes de raíz, se observó un xilema de elementos conductores anchos y rayos angostos que se dilatan en la región del floema, las células de la médula y sus espacios intercelulares son más grandes que en crecimiento primario (fig. 9C).

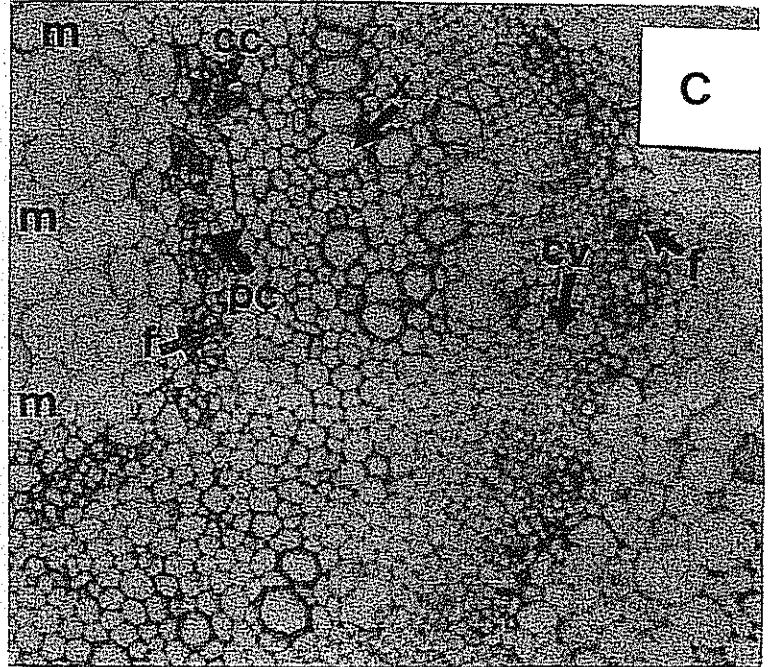
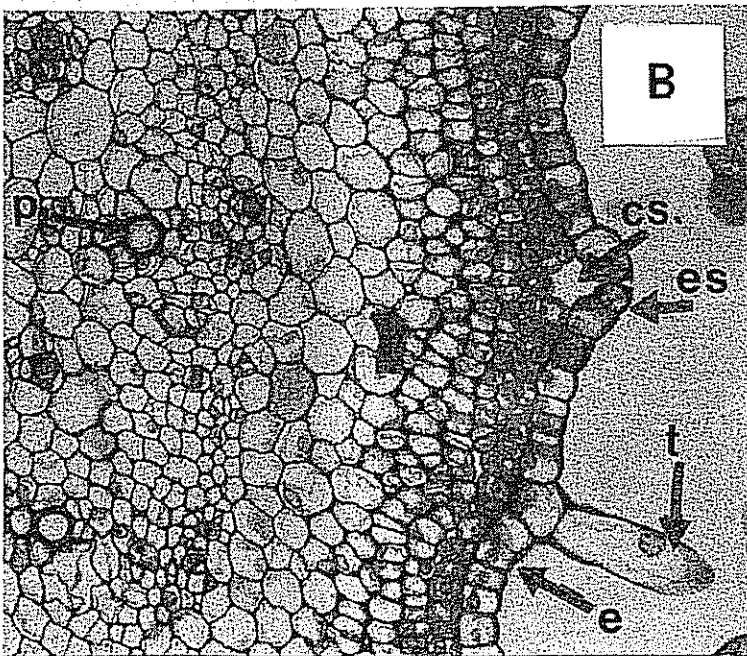
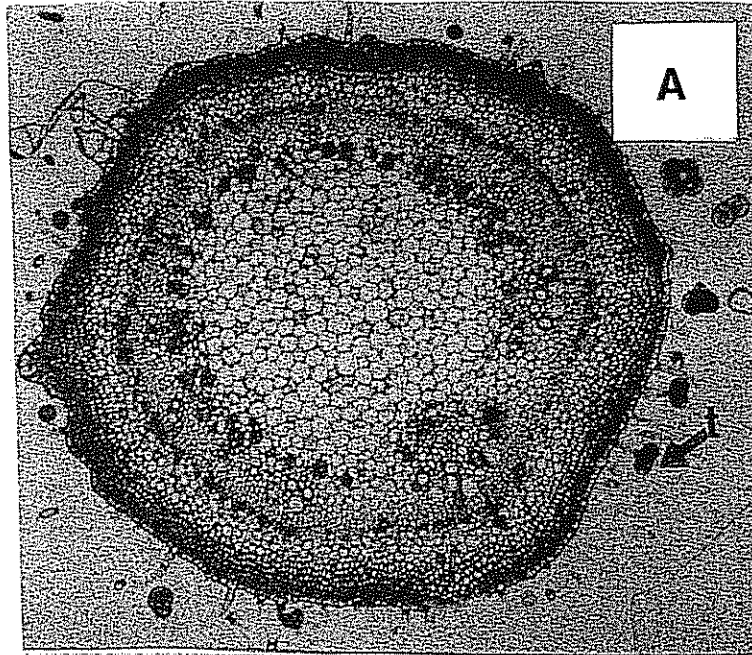


Figura 8 Tallo en crecimiento primario. (A) obsérvese los tricomas (t) y la médula (m). (B) Epidermis (e), estomas (es), precipitado (p), cámara subestomática (cs) y tricomas (t). (C) Tejido vascular en detalle obsérvese xilema (x), floema (f), cambium vascular (cv) .CATIE. Turrialba, 1997.

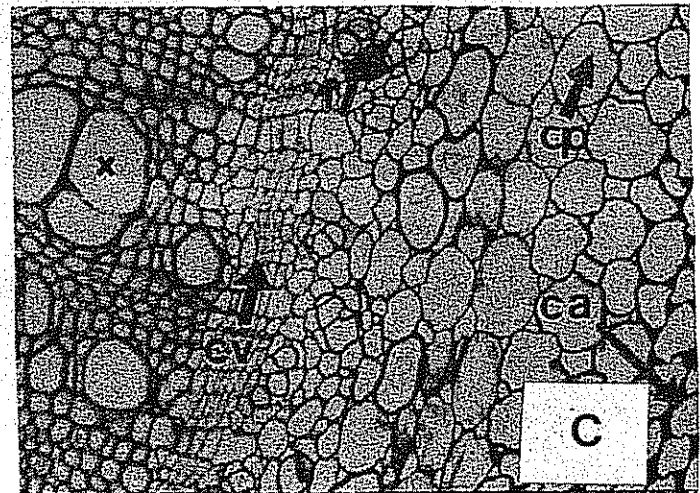
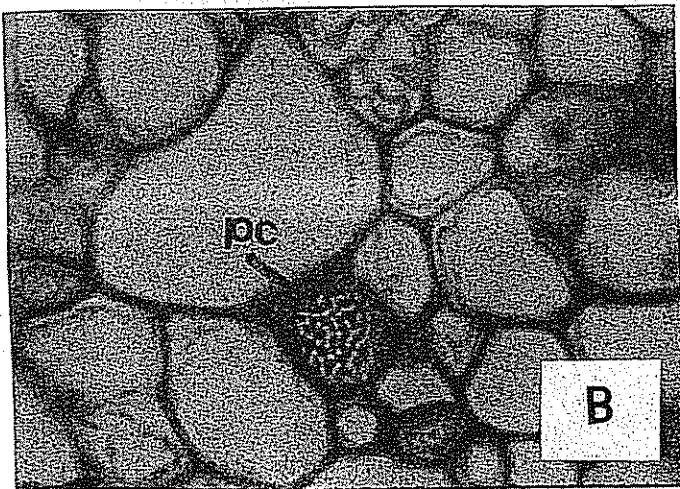
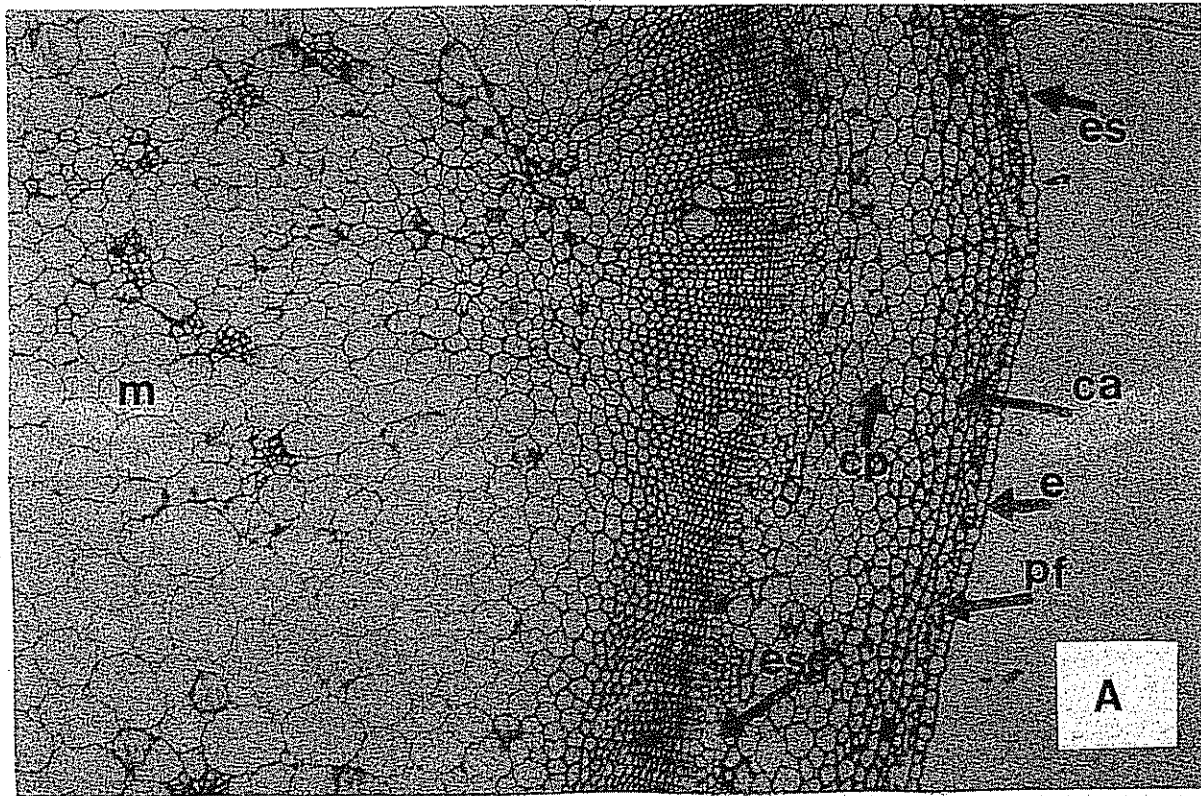


Figura 9. Tallo en crecimiento secundario. (A) Corte transversal observe epidermis (e), estomas (es), parénquima fotosintético (pf), colénquima angular (ca), capa parenquimática (cp), esclerénquima (esc) y médula (m). (B) Detalle de la placa cribosa (pc). CATIE. Turrialba, 1997.

HOJA

Las secciones transversales de hoja realizados a los testigos, mostraron una epidermis uniseriada, compuesta por células rectangulares, gran cantidad de tricomas, y estomas en ambas superficies, siendo más abundantes sobre la superficie abaxial; la región de la vena media también posee estomas y tricomas en gran cantidad; por debajo de la epidermis adaxial se desarrolló una capa uniseriada de mesófilo en empalizada y otra de mesófilo esponjoso caracterizada por la presencia de espacios aéreos muy grandes y presencia de idioblastos con contenido cristalino; la epidermis abaxial es muy similar a la adaxial y sus células mantienen la forma rectangular, con un tejido vascular bien diferenciado (fig. 10 A, B).

Los cortes realizados a los diferentes tratamientos permitieron determinar que la hoja es el órgano de la planta más afectado por los tratamientos; la técnica utilizada no permitió ver diferencias entre el primer y el segundo muestreo con respecto al testigo, sin embargo las observaciones del tercer muestreo permitieron observar marcados daños externos e internos; en tal sentido se apreció a nivel del T3, divisiones celulares a nivel del mesófilo en empalizada, formando con ello un tejido más compacto que el que se observó en los testigos (fig. 10 C). En el tercer muestreo de los T9 y T10, y en menor proporción T7 y T8 se observó diferencia a nivel de mesófilo en empalizada, ya que este tejido mostró un arreglo menos compacto, los cloroplastos se localizaron uno por debajo del otro formando especies de collares; ubicado muy cerca a la pared se apreció deformación de las células oclusivas y de los tricomas, también se observó un mayor plegamiento de la lámina foliar.

Los idioblastos se hicieron más frecuentes y los espacios intercelulares a nivel de mesófilo se hicieron grandes; en T8, T9 y T10 se observó un precipitado oscuro en el núcleo de las células del floema, aún en células vecinas, lo que se hizo más evidente en la medida en que aumentó la lesión.

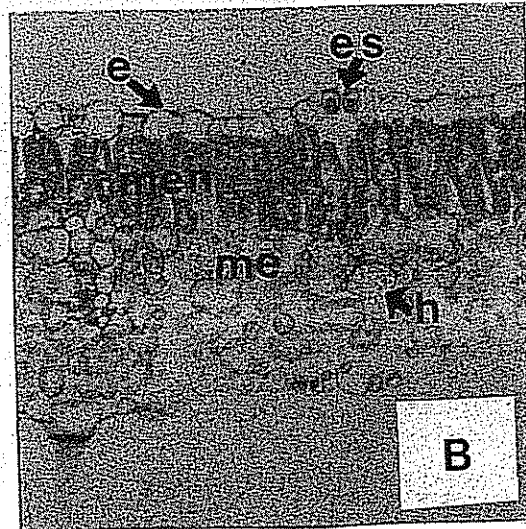
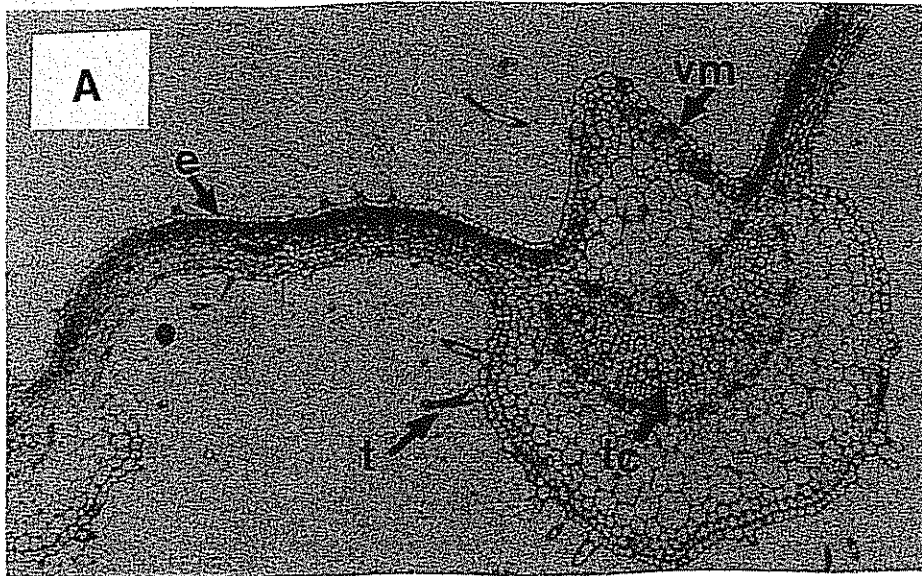


Figura 10. (A) Hoja normal en corte transversal. Obsérvese epidermis (e), tricomas (t), y vena media. (B) Detalle de la hoja, obsérvese epidermis (e), estomas (es), mesófilo en empalizada (men), mesófilo esponjoso (me), e idioblastos (h) CATIE. Turrialba, 1997.

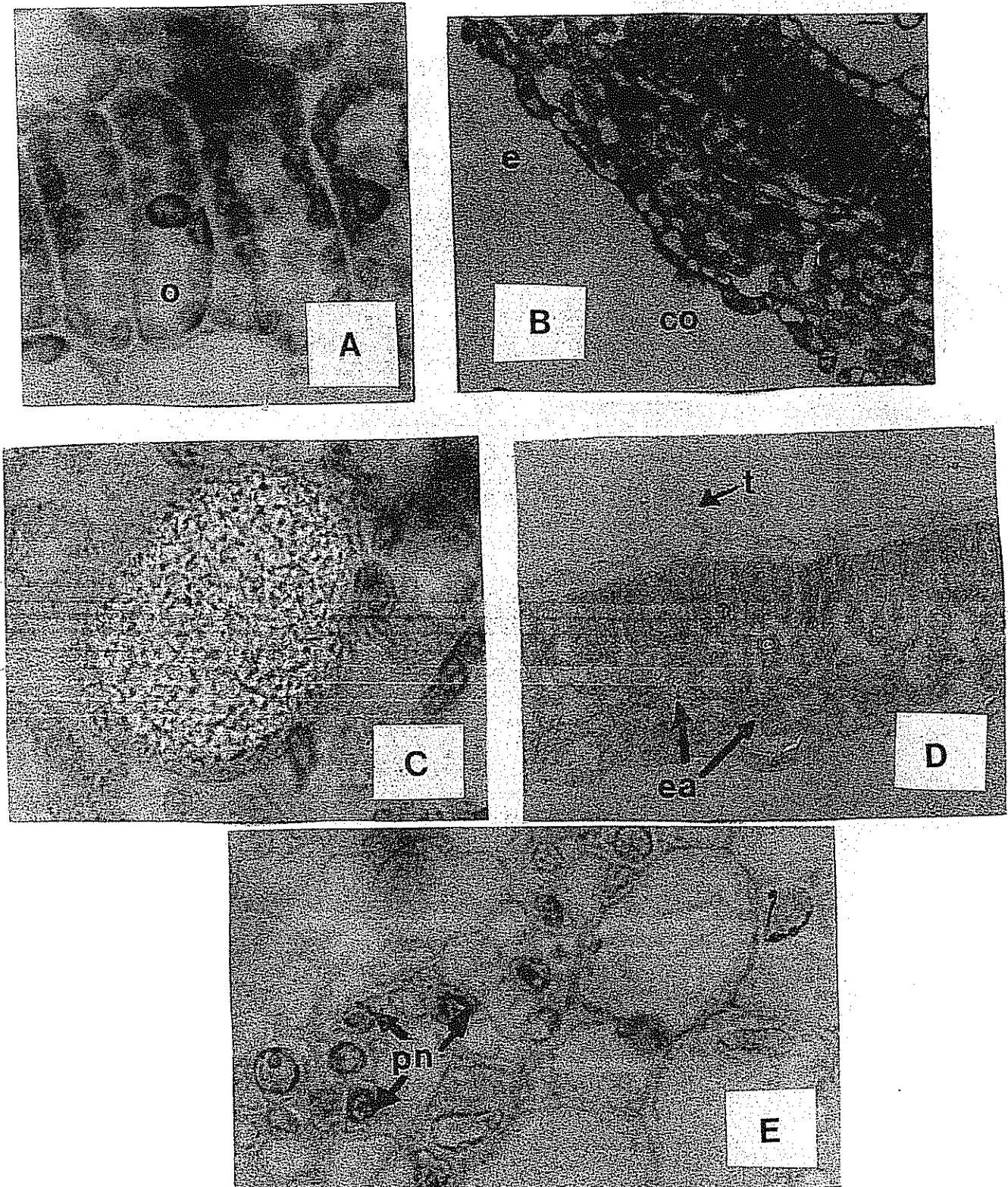


Figura 11. Hoja afectada por el virus. (A) Detalle de los cloroplastos bordeando la pared celular (o). (B) Obsérvese deformaciones de la epidermis (e) y células oclusivas (co), hidioblastos (h). (C) Detalle de un hidioblasto. (D) Tricomas deformados (t), espacios aereos (ea). (E) puntos negros adheridos a la pared celular de las células del floema (pn). CATIE. Turrialba, 1997.

V. DISCUSION

Las plántulas llevadas al invernadero tenían buenas características agronómicas, favorecidas por el aislamiento del vector y el fertilizante de liberación lenta. Además, mostraron un crecimiento vigoroso y excelente porte durante las siete primeras semanas de evaluación, lo cual coincide con los resultados de otros autores (Rivas *et al.* 1994, Padilla 1995, Suazo 1995, Salazar 1996).

En los tratamientos testigos el crecimiento fue normal, con plantas muy vigorosas, de abundante follaje y hojas grandes. En ellos se registró el mayor crecimiento en altura y la mayor producción de biomasa final. Esto se debió a que, por su aislamiento total, no fueron afectados por el virus. Sin embargo, esto no se reflejó en el rendimiento total, pues los testigos no difirieron de los tratamientos inoculados.

La producción fue baja en ambos testigos, con un máximo de 27 t/ha en T2, si se compara con datos previos para la misma variedad (Padilla 1995). Esto podría explicarse porque, aunque en ambos estudios se utilizó la variedad Hayslip, ésta es producida por diferentes casas comerciales; se tienen evidencias de campo de que dicha variedad puede diferir mucho en producción, dependiendo de la marca comercial (M. Sc. Carlos A. Quirós 1997, CIAT com. pers.). Además, por causas desconocidas, solamente las plantas de los testigos mostraron deficiencia de calcio, lo que se expresó en el “culillo negro” de los primeros frutos en formación; esto quizás contribuyó a que dichos frutos no crecieran hasta alcanzar la clase I.

Los grupos de tratamientos que recibieron 600 o 1800 kg P/ha difirieron entre sí en cuanto a la altura y la cantidad total de enfermedad (ABCPE), pero no en la morfología, el índice promedio de severidad, la producción de biomasa, ni el rendimiento. Aunque por datos previos (Padilla 1995) se esperaba que algunas de estas variables, y en particular el rendimiento, fueran influenciados por el aumento en la cantidad de fósforo, esto no sucedió así.

La posible explicación de esta discrepancia es que en este experimento, en el que las plantas tuvieron muy buenas condiciones de temperatura, luminosidad, suelo, riego y fertilización foliar, quizás aprovecharon de manera óptima los 600 kg P/ha, los cuales fueron aportados según la curva de absorción del cultivo (Bertsch y Guzmán 1981) y complementados con 400 y 300 kg/ha de nitrógeno y potasio, respectivamente. En Costa Rica, estos son los niveles recomendados normalmente para una producción comercialmente satisfactoria (M. Sc. Mario Saborío 1996, Cotsasol S. A., com. pers.). Es decir, para la planta, cualquier valor superior a 600 kg P/ha podría representar un exceso que, aunque pudiera estar disponible para la planta, ésta no estaría en capacidad metabólica para absorberlo (Marschner 1986). Por el contrario, en el experimento de Padilla (1995) las plantas estuvieron a menor distancia de siembra y bajo condiciones de luminosidad inferiores, por lo que el nivel de 1800 kg P/ha quizás fue la clave para su desarrollo y para aportar mayor producción. Además, permitió disminuir el impacto de la virosis, que fue mucho mayor en dicho experimento.

El efecto de las inoculaciones múltiples del ToYMV-CR se percibió en la altura entre los testigos y los tratamientos inoculados, así como también en los estudios histológicos, pues las deformaciones de la estructura de la lámina foliar fueron notorias, pero no en la biomasa final ni el rendimiento. Histológicamente, los mayores cambios y diferencias entre tratamientos se ubicaron en las hojas apicales en crecimiento, lo cual se debe a que es en esta estructura donde se ubica la partícula viral para efectuar sus replicaciones; estas observaciones coinciden con las de Lastra y Gil (1981), quienes observaron grupos de partículas virales negras en forma de anillos fibrilares en las células parénquimáticas del floema. Asimismo Rodríguez-Pardina *et. al* (1997) reportan la detección, con microscopía electrónica de inclusiones intracelulares en forma de anillos fibrilares en el nucleoplasma y células parénquimáticas del floema de un geminivirus; posiblemente las puntuaciones oscuras observadas en las células del floema correspondan a las partículas virales observadas por estos autores.

Las tendencias del rendimiento fueron erráticas y no existe una explicación sobre lo sucedido en este experimento. Varios hechos permiten suponer que la mayoría de los adultos recolectados directamente del invernadero sobre plantas enfermas y utilizados para las inoculaciones no

transmitieron el geminivirus ToYMV-CR, no obstante, con que solo uno de los vectores estuviese virulífero y fuese capaz de inocular el virus, las plantas manifestarían los síntomas de la enfermedad. En primer lugar, es incongruente que los testigos, que no fueron afectados por el mosaico amarillo del tomate, tuvieran rendimientos equivalentes a los de los tratamientos inoculados. Además, varias de las plantas muestreadas para los estudios histológicos, a pesar de haber recibido hasta tres o cuatro inoculaciones con el ToYMV-CR, donde se suponía que existiría una mayor presión de inóculo, no mostraron síntomas.

Sin embargo, no hay duda de que dicho virus estuvo presente, pues en los tratamientos inoculados la incidencia de la enfermedad fue del 100%, e incluso los síntomas se expresaron más rápidamente en los tratamientos con las mayores inoculaciones, ya que por el solo hecho de existir un adulto virulífero fue suficiente para que la enfermedad se manifestara. Esto quizás se explica porque, al aumentar el número de inoculaciones y, con ello, la densidad de adultos, se incrementó la probabilidad de que hubiera adultos realmente virulíferos, aunque fuera en baja cantidad.

Quizás esta baja cantidad fue suficiente para causar efectos, también erráticos, en la incidencia y severidad de la enfermedad, pero no en los rendimientos. Dichos efectos también podrían ser un artificio, debido a que el tamaño de la muestra varió conforme transcurrió el experimento, pues al inicio la unidad experimental constaba de cuatro plantas y al final de apenas una, debido a que ellas se extrajeron para los estudios histológicos. Así, si apenas una o dos de las plantas mostraban cierto índice de severidad, éste debía promediarse entre cuatro, que era realmente la unidad experimental, lo cual podría haber alterado las tendencias reales del índice de severidad y quizás las tendencias de las ecuaciones cuadráticas y lineales, respectivamente. No obstante, por los resultados y las tendencias estadísticas de estas ecuaciones, se observó que a medida que aumenta el índice de severidad los rendimientos decrecen en todos los tratamientos inoculados. De esta forma, la investigación realizada permite discrepar con la información obtenida por Padilla (1995) y aclarar que la fertilización fosfórica utilizada no atenuó la severidad del mosaico amarillo del tomate.

La hipótesis de que la mayoría de los adultos de *B. tabaci* no transmitieron el ToYMV-CR carece de sustento experimental. Aunque bajo ciertas condiciones, teóricamente podría ser posible la pérdida de capacidad de transmisión de geminivirus (Dr. Henryk Czosnek 1997, The Hebrew University of Jerusalem, com. pers. ; Dra. Jane E. Polston 1997, University of Florida, com. pers.; Dra. Pamela K. Anderson 1997, CIAT, com. pers.), ninguna de estas condiciones experimentales se presentó en esta investigación. Los adultos se tomaron de colonias criadas sobre plantas de tomate y frijol de edades mezcladas, las cuales han estado en el invernadero por apenas tres años. Sin embargo, esto amerita ser esclarecido, eventualmente.

VI. CONCLUSIONES

- La fertilización con dosis altas de fósforo (1800 kg/ha), superiores a las recomendadas comercialmente, no afectó los rendimientos del cultivo.

- La severidad del mosaico amarillo del tomate repercutió negativamente en el rendimiento de las plantas de tomate, pues a medida que se incrementó, el rendimiento disminuyó.

- La fertilización rica en fósforo no atenuó la severidad del mosaico amarillo del toamte.

VII. RECOMENDACIONES

- En futuros ensayos, se recomienda hacer que el vector tenga su período de adquisición alimentación por al menos 24 horas, aunque estos se estén alimentando sobre plantas totalmente enfermas.
- Incrementar el de repeticiones de tal manera de evitar que la obtención de la información de las unidades experimentales se vea afectada por un bajo número de observaciones. número
- Realizar estudios histológicos a nivel de microscopía electrónica que permitan esclarecer si las puntuaciones negras observadas en las células del floema realmente corresponden a los grupos o anillos causados por los geminivirus.

VIII. LITERATURA CITADA

- ACUÑA, W. 1993. Efecto de la infección de un geminivirus sobre el rendimiento del tomate (*Lycopersicon esculentum*) a diferentes estados de desarrollo de la planta. Tesis Lic. Agr. Universidad de Costa Rica, Sede del Atlántico. Turrialba, Costa Rica. 73 p.
- AGRIOS, G.N. 1995. Fitopatología. Edi. LIMUSA. México. 838 p.
- ANZOLA, D.; LASTRA, R. 1978. Protección de semilleros de tomate y relación con la incidencia del mosaico amarillo del tomate. *Agronomía Tropical (Venezuela)* 28 473-482.
- BARRETO, M.; CASTELLANE, D. P. 1989. Relacoes entre a nutricao minerale a incidencia de doencas. *Sob Informa (Brasil)* 21(2):27-29.
- BERGMAN, E L.; BOYLE, S. J. 1962. Effect of tobacco mosaic virus on the mineral content of tomato leaves. *Phytopathology* 52(9):956-957.
- BERTSCH, F; GUZMAN, E. 1981. Nutrición mineral de hortalizas: curvas de absorción de nutrientes. Turrialba, Costa Rica, Programa Universidad de Costa Rica/CATIE. 23 p (Mimeografiado).
- BLACK, C. A. 1968. Relación suelo-planta. 1 ed. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires. 700 p.
- BOCK, K R. 1982. Geminivirus diseases in tropical crops associated with whiteflies. *Adv. Virus Res.* 22:55-110.
- BONILLA, F. 1995. Período de adquisición, latencia y transmisión de un geminivirus en tomate por la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 35:11-13.
- BROWN, J.K. 1994. Current status of *Bemisia tabaci* as a plant pest and virus vector in agroecosystems worldwide. *FAO Plant Protection Bull.* 39 (1): 3-31.
- BROWN, J.K; BIRD, J. 1992. Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Disease.* 76 (3): 220-225.
- BROWN, J. K.; BIRD, D, J. 1991. An update on the whitefly - transmitted geminiviruses in the Americas and the Caribbean Basin. *FAO. Plant Protection Bulletin.* 39 (1):5-23.
- BRUNT, A. A. 1992. Transmission of diseases *In Bemisia tabaci*: A literature survey on the cotton whitefly with an annotated bibliography. M. J. W. Cock (ed). *FAO-CATIE-IICA*. Ascot, UK. p. 43-50.

- BYRNE, D.; BELLOWS, T. S. 1991. Whitefly biology. *Ann. Rev. Entomol.* 36:431-457.
- CABALLERO, C, RUEDA, A. 1993. Las moscas blancas en Honduras. *In* Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe L. Hilje y O. Arboleda (eds) Turrialba, Costa Rica. CATIE. Serie Técnica. Informe Técnico No 205 66p.
- CASTAÑO ZAPATA, J. 1994. Principios básicos de fitopatología. 2ª edic. Zamorano Academic Press. Zamorano, Honduras. 538 p.
- CATIE. 1990. Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo del tomate. Turrialba, Costa Rica. CATIE. Serie Técnica. Informe Técnico No. 151. 138 p.
- CHRISTIE, R.; EDWARDSON, J. 1986. Light microscopic techniques for detection of plant virus inclusions. *Plant Disease* 70 (4): 273-279.
- COHEN, S. 1990. Epidemiology of whitefly-transmitted viruses. *In* Whiteflies: Their bionomics, pest status and management. D. Gerling (ed.). Intercept, Andover, UK. p. 211-225
- CORDREY, T. D.; BERGMAN, E. L. 1979. Influence of cucumber mosaic virus on growth and elemental composition of susceptible (*Capsicum annuum* L.) and resistant (*Capsicum frutescens* L.) peppers. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 104(4): 505-510.
- CZOSNEK, H.; BER, R.; ANTIGNUS, Y.; COHEN, S.; NAVOT, N.; ZAMIR, D. 1988a. Isolation of tomato yellow leaf curl virus. *Phytopathology* 78: 508-512.
- DUFFUS, J. E. 1987. Whitefly transmission of plant viruses. *Curr. Top. Vector Res.* 4 : 73-91.
- FLORES, E. M. 1994. La planta: estructura y función. 2ª ed. Editorial Tecnológica de Costa Rica Cartago, Costa Rica. 386 p.
- FRANKE, G.; VAN BALEN, L.; DEBROT, E. 1983. Efecto de la época de infección por el mosaico amarillo sobre el rendimiento del tomate. *Rev. Fac. Agronomía Universidad del Zulia (Ven.)* 6(2).741-743.
- FRASER, R. S. S. 1987. Biochemistry of virus-infected plants. Research Studies Press Ltd., Letchworth, England. 259 p.
- FRY, W. E. 1982. Principles of plant disease management. Academic Press. Florida. 242 p.
- 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. NATO ASI Series, Vol H41 p. 207-231.

- GOODMAN, R. N.; 1981. Geminiviruses. *J. Gen. Virol.* 54:9-21
- GOODMAN, R. N.; KIRALY, Z.; ZAITLIN, M. 1967. The biochemistry and physiology of infectious plant disease. D. Van Nostrand Company, Inc. Princenton. 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.
- HARRISON, B. D. 1985. Advances in geminivirus research. *Ann. Rev. Phytopathol.* 23:55-82.
- HILJE, L. 1996. Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. Luko Hilje, ed. CATIE. Turrialba, Costa Rica. Serie 137. 133 p.
- HILJE, L.; ARBOLEDA, O. (eds.) 1993. Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. CATIE. Turrialba, Costa Rica. Serie Técnica. Informe Técnico No. 205. 66 p.
- HILJE, L.; CUBILLO, D. 1996. Prácticas agrícolas. *In* Metodología para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. Hilje, (ed). CATIE. Turrialba, Costa Rica. Unidad de fitoprotección. P. 51-59
- HOLLINGS, M. 1985. Virosis o enfermedades causadas por virus. *In* Manual para patólogos vegetales. FAO-CAB. Santiago, Chile. p. 45-76.
- HULL, R. 1989. The movement of viruses in plants. *Ann. Rev. Phytopathol.* 27:213-240.
- HUBER, D. M. 1980. The role of mineral nutrition in plant defense. *In* Plant Disease. Horsfall J. G. & E. B. Cowling (eds.). New York, Academic Press. Vol. 5, p.381-406.
- HUBER, D. M. 1994. The influence of mineral nutrition on vegetable diseases. *Hort. Bras. (Brasil)* 12(2): 206-214.
- JIMENEZ LOPEZ, J. I. 1996. Evaluación de inductores de resistencia a geminivirus y promotores del crecimiento en el cultivo del tomate. Tesis Mag. Sc. CATIE, Turrialba. Costa Rica. 84 p.
- KAPLAN, C. R.; BERGMAN, L. E. 1985. Virus infection and nutrient elemental content. A review. *Soil Sci. Plant Anal.* 439-435.
- KING, A.B.S.; SAUNDERS, J. L. 1985. Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. Londres, ODA. 182 p.
- KIRALY, Z. 1976. Plant disease resistance as influenced by biochemical effects of nutrients in fertilizers. *In* Fertilizer use and plant health. International Potash Institute. Switzerland.

- KOOPER, N.; MENESES, R.; JIMENEZ, J. M.; QUESADA, S. 1991. Evaluación de líneas de tomate de mesa resistentes a *Pseudomonas solanacearum* en la época seca en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 19: 1-4.
- LASTRA, R. 1993. Los geminivirus: un grupo de fitovirus con características especiales. *In* Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. L. Hilje y O. Arboleda (eds.). CATIE, Turrialba, Costa Rica. Serie Técnica. Informe Técnico No. 205. p. 16-19.
- LASTRA, R.; GIL, F. 1981. Ultrastructural host cell changes associated with tomato yellow mosaic. *Phytopathology* 71(5): 524-528.
- LASTRA, R.; GIL, F. 1984. Función de los anillos fibrilares asociados con el núcleo de células infectadas con el mosaico dorado del frijol. *In* Jornadas Venezolanas de Microscopía Electrónica. Caracas, Venezuela. p. irr.
- LEAL, N.; LASTRA, R. 1984. Altered metabolism of tomato plants infected with tomato yellow mosaic. *Physiological Plant Pathology* 24:1-7.
- MALAVOLTA, E. 1989. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Piracicaba. Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fósforo. 201 p.
- MARSCHNER, H. 1986. Mineral nutrition of higher plants. San Diego, Academic Press. P. 674.
- MARTIN, C. 1976. Nutrition and virus diseases of plants. *In* Fertilizer use and plant health. International Potash Institute. Bern, Switzerland. p. 193-200.
- NAKHLA, M. K.; MAXWELL, M. D.; HIDAYAT, S. H.; LANGE, D. R.; LONIELLO, A. O.; ROJAS, M. R.; MAXWELL, D. P.; KITAJIMA, E. W.; ROJAS, A.; ANDERSON, P.; GILBERTSON, R. L. 1994. Two geminiviruses associated with tomatoes in Central America. *Phytopathology* 84 (10): 1072. (Abstr.)
- PALTI, J. 1981. Cultural practices and infectious crop diseases. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg, New York. 243 p.
- PADILLA, M.R. 1995. Reducción de la severidad del mosaico amarillo del tomate mediante fertilización al suelo. Tesis Mag. Sc. CATIE, Turrialba. Costa Rica. 89 p.
- RAMIREZ, P.; MAXWELL, D. 1995. Geminivirus transmitidos por moscas blancas. *Manejo Integrado de Plagas*. Costa Rica. 36:22-27.

- REUVENI, M.; AGAPOV V.; REUVENI, R. 1992. Local and systemic protection against powdery mildew and growth increase in cucumber plants induced by phosphate salts. *Phytopathology*. 82. (Abstract)
- RIVAS PLATERO, G.G. 1996. Descripción matemática de epidemias. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 40:35-39.
- RIVAS PLATERO, G.G.; LASTRA, R.; HILJE, L. 1994. Retardo de la virosis transmitida por *Bemisia tabaci* (Gennadius) en tomate mediante semilleros cubiertos. *Manejo Integrado de Plagas. Costa Rica*. 31: 12-16.
- RIVAS PLATERO, G.G.; RAMIREZ, P.; CUBILLO, D.; HILJE, L. 1995a. Detección de virus en plantas silvestres asociadas con el tomate y chile dulce en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas. Costa Rica*. 38: 37-39.
- RIVAS PLATERO, G.G.; RAMIREZ, P.; CUBILLO, D.; HILJE, L. 1995b. Translocación y cuantificación de geminivirus asociados con el mosaico amarillo del tomate. *Manejo Integrado de Plagas. Costa Rica*. 38: 20-24.
- RODRIGUEZ PARDINA, P. E.; PLOPER, G. A.; TRUOL, G. A.; HANADA, K.; RIVAS PLATERO, G. G.; RAMIREZ, P.; HERRERA, P.S.; LAGUNA, G. 1997. Detección de geminivirus en el cultivo de soja en el noroeste argentino. *Avance Agroindustria. Argentina* (en prensa)
- ROM, M.; ANTIGNUS, Y.; GIDONI, D.; PILOWSKY, M.; COHEN, S. 1993. Accumulation of tomato yellow leaf curl virus DNA in tolerant and susceptible tomato lines. *Plant Disease*. 77: 253-257.
- SALAZAR, E. 1996. Efecto de la densidad de adultos virulíferos de la mosca blanca, *Bemisia tabaci* (Gennadius), sobre la severidad del mosaico amarillo del tomate y el rendimiento del cultivo. Tesis Licenciatura. Universidad de Costa Rica, Sede del Atlántico. Turrialba, Costa Rica. 79 p.
- SAS INSTITUTE INC. 1985. SAS User guide: Statistics, Version 5 ed. Cary, NC, SAS Institute Inc. 956 p.
- SCHUSTER, D. J.; PRICE, J.F.; KRING, J. B.; EVERETT, P.H. 1989. Integrated management of the sweetpotato whitefly on the commercial tomato. Bradenton GCREC Research Report BRA. 1989-12 IFAS, University of Florida. 22 p.
- 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.

- SERRA, C.A. 1996 Biología de moscas blancas. *In* Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. L. Hilje ed. CATIE, Turrialba, Costa Rica. Serie Materiales de Enseñanza No. 37. p. 11-21.
- SMITH, K.M. 1972. A textbook of plant virus diseases. 3 ed. Academic Press. N.Y. 684 p.
- STANLEY, J. 1985. The molecular biology of geminiviruses. *Adv. Virus Res.* 30:139-177.
- SUAZO, P.E. 1995. Efecto de podas y fertilización sobre la severidad del mosaico amarillo del tomate. Tesis Mag. Sc. CATIE, Turrialba. Costa Rica. 84 p.
- UZCATEGUI, R. C.; LASTRA, R. 1978. Transmission and physical properties of the causal agent of mosaico amarillo del tomate (Tomato Yellow Mosaic). *Phytopathology* 68:985-988
- ZAITLIN, M.; HULL, R. 1987. Plant virus-host interactions. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 38:291-31

IX. ANEXOS

Anexo 1. Análisis químico del suelo, previo a la siembra del experimento. CATIE, Turrialba 1997.

Elemento	Concentración
Nitrógeno (en % de Materia Orgánica)	6.24 %
Fósforo	4.5 mg/kg
Potasio	0.08 cmol(+)/kg
Calcio	4.18 cmol(+)/kg
Magnesio	2.83 cmol(+)/kg
Cobre	21.2 mg/kg
Zinc	2.4 mg/kg
Manganeso	34.1 mg/kg
Profundidad	50 cm
pH (en agua)	6,24
Textura	Franco-arcilloso

Anexo 2. Ajuste de la aplicación semanal de N-P-K (porcentual),
según la curva de absorción del cultivo.

sdt	N	P	K
0	7,5	5	5
1	7,5	5	5
2	45	30	20
3	30	50	50
4	10	10	20

Fuente: Bertsch (1981)

Anexo 3. Altura semanal promedio (cm) de las plantas de tomate, según los tratamientos

Sdt	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10
1	20.35 a	20.4 a	17.95 bc	18.70 bc	19.8 ab	19.75 ab	19.10 abc	19.20 abc	20.40 a	18.9 bc
2	37.35 a	36.88 a	28.68 c	29.50 bc	31.38 b	31.65 b	28.83 c	30.20 bc	30.18 bc	29.15 bc
3	76.23 a	71.67 a	52.07 cde	54.73 bd	51.33 de	55.93 c	49.47 e	54.27 cd	50.47 de	47.93 e
4	94.87 a	88.33 a	64.73 c	64.13 c	61.33 c	65.33 c	61.93 c	65.47 c	61.6 c	60.73 c
5	111.3 a	99.6 a	67.3 cd	68.30 cd	66.9 cd	70 c	65.10 cd	66.6 cd	62.9 d	62.1 cd
6	129.8 a	123.6 a	76 bc	85 b	72.6 c	78 bc	78 bc	78 bc	73.8 bc	72 c
7	135.4 a	129.8 a	78.4 c	89.8 b	75.2 c	83.4 bc	80.27 bc	83.2 bc	77.6 c	78.8 c
8	140.8 a	138 a	87 cd	97.6 b	84.2 cd	92.6 bc	85 cd	91 bcd	81.8 d	86.8 cd
9	145.6 a	144.8 a	92.6 cd	106.2 b	89.6 cd	99.6 bc	90.4 cd	98.4 bc	88 d	94 cd
10	151.6 a	150.6 a	98.6 cd	113.6 b	95.4 d	107 bc	96.4 d	107.6 bc	94.4 d	100.6 cd
11	157 a	157.2 a	105.8 de	102.2 b	102.4 e	113.2 bcd	103.2 de	114.8 bc	101 e	106.8 cde
12	162.8 a	164.8 a	111.8 cd	127.4 b	110 d	121 bc	109.87 d	121.2 bc	106.8 d	112 cd
13	167.6 a	171.2 a	114.2 cd	133.6 b	110.6 d	122 c	110.4 d	123.2 c	108.2 d	115.4 cd
14	167.6 a	171.2 a	114.2 cd	133.6 b	110.6 d	122 c	110.4 d	123.2 c	108.2 d	115.4 cd
15	167.6 a	171.2 a	114.2 cd	133.6 b	110.6 d	122 c	110.4 d	123.2 c	108.2 d	115.4 cd

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

Anexo 4. Promedio semanal del índice de severidad, según los tratamientos.

Sdt	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10
1	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
2	0 b	0 b	0 b	0 b	1.12 a	0 b	0 b	0 b	1.25 a	1.17 a
3	0 b	0 b	0 b	0 b	1.59 a	1.0 ab	1.0 ab	1.0 ab	1.98 a	1.75 a
4	0 c	0 c	0 c	0 c	1.96 a	1.21 ab	1.26 ab	1.55 b	2.56 a	2.73 a
5	0 d	0 d	1.18 c	1.00 c	2.26 b	1.86 bc	1.95 bc	2.06 b	3.05 a	3.14 a
6	0 d	0 d	1.65 c	1.35 c	2.98 b	2.35 bc	2.45 bc	2.85 b	3.52 a	3.60 a
7	0 e	0 e	2.45 c	1.98 de	3.25 bc	3.02 bc	3.12 bc	3.45 b	3.98 a	3.85 a
8	0 e	0 e	2.96 c	2.25 d	3.79 b	3.55 bc	3.86 b	3.79 b	4.54 a	4.35 a
9	0 e	0 e	3.42 c	2.88 d	4.12 b	3.84 bc	4.00 b	3.93 b	4.86 a	4.62 a
10	0 e	0 e	3.98 c	3.25 cd	4.52 b	4.02 c	4.35 bc	4.16 bc	5.00 a	4.93 a
11	0 e	0 e	4.33 c	4.00 cd	4.85 b	4.52 bc	4.75 b	4.89 a	5.00 a	5.00 a
12	0 d	0 d	4.89 b	4.68 bc	5.00 a	5.00 a	5.00 a	4.98 a	5.00 a	5.00 a
13	0 c	0 c	5.00 a	4.78 b	5.00 a	5.00 a	5.00 a	5.00 a	5.00 a	5.00 a
14	0 b	0 b	5.00 a	5.00 a	5.00 a	5.00 a	5.00 a	5.00 a	5.00 a	5.00 a
15	0 b	0 b	5.00 a	5.00 a	5.00 a	5.00 a	5.00 a	5.00 a	5.00 a	5.00 a

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

Anexo 5 Promedio del peso seco (g/planta) por estructura, según los tratamientos. CATIE, Turrialba. 1997.

Tratamientos	Raíces	Tallo y hojas	Frutos	Peso total
T1	28.81 ab	88.95 ab	17.99 ab	135.75 ab
T2	37.33 a	99.57 a	22.23 a	159.13 a
T3	22.86 ab	80.34 ab	13.25 bc	116.45 bc
T4	27.23 ab	83.50 ab	6.51 cd	117.24 bc
T5	20.15 ab	79.53 ab	4.16 d	87.69 c
T6	18.78 b	74.47 ab	6.44 cd	99.69 bc
T7	13.08 b	66.65 b	8.38 cd	88.11 c
T8	21.78 ab	79.53 ab	12.37 cd	113.70 bc
T9	13.17 b	62.30 b	5.77 cd	81.23 c
T10	11.28 b	66.32 b	4.54 d	82.14 c
R²	0.39	0.39	0.59	0.49
C.V. (%)	56.46	23.48	55.82	27.96

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

Anexo 6 Promedio del número de frutos por clases comerciales, según los tratamientos
CATIE, Turrialba 1997.

Tratamientos	CLASE I	CLASE II	CLASE III	Rendimiento
T1	2.20 ab	1.0 b	8.40 abc	11.6 abc
T2	2.60 a	2.80 ab	5.60 bc	11.0 abc
T3	2.0 ab	3.40 a	3.60 bc	9.0 abc
T4	2.8 a	2.0 ab	4.80 bc	9.6 abc
T5	2.20 ab	2.80 ab	4.80 bc	9.8 abc
T6	0 b	2.60 ab	12.00 a	14.6 a
T7	2.0 ab	2.40 ab	2.60 c	7.0 c
T8	1.0 ab	2.40 ab	9.60 ab	13.0 ab
T9	1.0 ab	2.40 ab	4.80 bc	8.20 bc
T10	0.80 ab	2.60 ab	7.00 abc	10.4 abc
R²	0.45	0.28	0.33	0.31
C.V. (%)	673.54	116.99	73.82	20.37

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

Anexo 7. Promedios del rendimiento (g/planta) , producción (t/ha) y por clase de frutos, según los tratamiento.CATIE, Turrialba 1997.

Tratamientos	CLASE I	CLASE II	CLASE III	Rendimiento Total	Producción (t/ha)
T1	415.0 a	137.2 a	548.8 abc	1101.2 a	22.94
T2	487.6 a	365.6 a	431.2 abc	1304.4 a	27.17
T3	396.2 a	470.0 a	268.8 bc	1135.0 a	23.65
T4	526.6 a	261.8 a	431.6 abc	1220.0 a	25.42
T5	415.0 a	393.8 a	335.0 bc	1141.8 a	23.79
T6	0 b	367.2 a	842.4 a	1209.6 a	25.20
T7	354.0 ab	330.2 a	208.2 c	892.4 a	18.60
T8	183.4 ab	334.8 a	713.6 ab	1231.8 a	25.66
T9	173.6 ab	318.6 a	390.2 bc	882.4 a	18.38
T10	145.2 ab	347.4 a	567.2 abc	1059.8 a	22.09
R²	0.48	0.26	0.25	0.27	
C.V. (%)	99.38	31.69	32.92	6.14	

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