

UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
MAESTRIA EN HORTICULTURA

**VIROSIS EN CHILE (*Capsicum annuum* L. y *C. frutescens* L.),
TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill) Y MALEZA EN NUEVE
LOCALIDADES DE YUCATAN Y EVALUACION DE TOLERANCIA
EN *Lycopersicon* spp.**

T E S I S

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
EN HORTICULTURA

P R E S E N T A :

CATARINO HERNANDEZ ESCOBAR



DIRECCION ACADÉMICA CHAPINGO, MEXICO. 1994
DEPTO. DE SERVICIOS ACADÉMICOS
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES

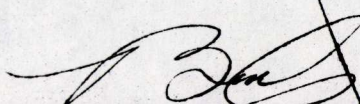
DX 62817
- 100593

Esta tesis fue realizada bajo la dirección del comité asesor indicado, ha sido revisada y aprobada por los mismos, como requisito parcial para la obtención del grado de:

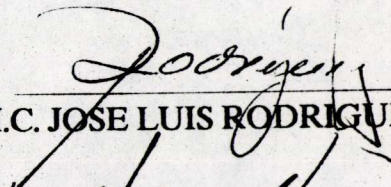
**MAESTRO EN CIENCIAS
ESPECIALISTA EN HORTICULTURA**

COMITE ASESOR

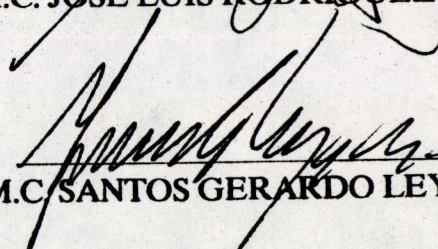
PRESIDENTE:


M.C. BENITO PINTO CORTES

ASESOR:


M.C. JOSE LUIS RODRIGUEZ DE LA O

ASESOR:


M.C. SANTOS GERARDO LEYVA MIR

27073

Chapingo, México, diciembre de 1994.

El jurado del examen de grado de Maestría en Ciencias en Horticultura estuvo constituido por:

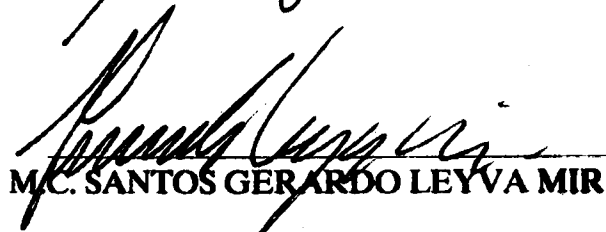
PRESIDENTE:


M.C. BENITO PINTO CORTES

ASESOR:


M.C. JOSE LUIS RODRIGUEZ DE LA O

ASESOR:


M.C. SANTOS GERARDO LEYVA MIR

**REPRESENTANTE DE LA COORDINACION
DE ESTUDIOS DE POSTGRADO EN
HORTICULTURA:**


DR. AGUSTÍN LOPEZ HERRERA

**REPRESENTANTE DE LA COORDINACION
GENERAL DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
DE LA UACH:**


DR. HECTOR FELIX ALVIZO VILLASANA

Cada uno de los cuales revisó y aprobó la tesis presentada.

Chapingo, México, diciembre de 1994.

AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad Autónoma Chapingo (UACH) y en especial al Centro Regional Universitario Península de Yucatán (CRUPY) por haber hecho posible la realización de mis estudios.
- Al Comité de Servicio de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH), por el financiamiento otorgado para la realización de este trabajo.
- Al M.C. Benito Pinto Cortés por la dirección y asesoría del presente trabajo de investigación.
- A la Dra. Elizabeth Cárdenas por su asesoría, apoyo en las pruebas de laboratorio, comentarios y sugerencias.
- A los profesores del Postgrado en Horticultura por la formación académica que me brindaron.
- A la Técnica laboratorista Gisela García de la Rosa por el apoyo brindado en algunas pruebas de laboratorio.
- Al M.C. Alejo Palacios Alvarez y al INIFAP de Zacatepec, Morelos por sus recomendaciones y donación de materiales para la evaluación.
- Al Ing. Orlando Puch Villacis de Oxkutzcab, Yuc. por las facilidades otorgadas durante el trabajo de campo.
- Al Sr. Mario Salazar del Depto. de Parasitología Agrícola de la UACH por su ayuda en los trabajos de invernadero.

- A los productores hortícolas de Yucatán por los conocimientos prácticos que he recibido.

- A la Srita. Ma. Teresa Huescas Sosa por su ardua labor de captura y la amistad que me brinda.

- A todas aquellas personas que de una u otra forma hicieron posible la realización de este trabajo.

DEDICATORIAS

- **A mis padres Jesús y Ernestina**, porque me dieron la vida y la oportunidad de superarme.
- **A mis hermanos: Rosario, Marbella, Areli, Sergio, Manuel, Amelia y Jesús**, porque siempre nos mantengamos unidos.
- **A mi compañera Cristina**, por su apoyo moral y tolerancia.
- **A mis hijos: Hypatia Yanuen, Eduardo y Cristina Berenice**, por su cariño y respeto a mis decisiones.
- **A la familia Ayala Flores**, por la gran amistad que nos une y siempre se conserve.
- **A todos mis compañeros de la maestría**, por la amistad y relación académica establecida.
- **A mis compañeros del CRUPY y de la Coordinación de Centros Regionales**, por el apoyo recibido.

CONTENIDO

	Pág.
INDICE DE CUADROS	IV
INDICE DE FIGURAS	V
RESUMEN	VI
I. INTRODUCCION.	1
II. REVISION DE LITERATURA.	3
2.1. Enfermedades virosas del tomate y chile	3
2.2. Características de las enfermedades virosas y virus	6
2.2.1. Virus del mosaico del tabaco (TMV) (Tobacco Mosaic Virus)	7
2.2.2. Virus del jaspeado del tabaco (TEV) (Tobacco Etch Virus).	10
2.2.3. Virus X de la papa (PVX) (Potato Virus X).	13
2.2.4. Virus de la mancha anular del tabaco (TRSV) (Tobacco Ringspot Virus).	14
2.2.5. Virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV) (Tomato Spotted Wilt Virus).	15
2.2.6. Virus del enrollamiento de la hoja de papa (PLRV) (Potato Leaf Roll Virus).	18
2.2.7. Virus del mosaico atenuado del chile (PMMV) (Papery Mild Mottle Virus).	19
2.3. Tipos de resistencia.	22
2.4. Uso de plantas de tomate resistentes a virus	24
2.5. Fuentes de resistencia del género <i>Lycopersicon</i>	25
2.5.1. <i>Lycopersicon hirsutum</i>	26

2.5.2. <i>Lycopersicon peruvianum</i>	28
2.5.3. <i>Lycopersicon esculentum</i>	30
2.5.4. <i>Lycopersicon esculentum</i> var. cerasiforme	32
2.5.5. Otras especies de <i>Lycopersicon</i>	32
III. MATERIALES Y METODOS	34
3.1. Colecta de material enfermo.	34
3.2. Serología. Método de ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)	34
3.3. Plantas diferenciales o indicadoras de virus	37
3.4. Inoculación mecánica.	37
3.5. Injertos.	38
3.6. Inclusiones virales.	38
3.7. Microscopio electrónico.	39
3.7.1. Tinción negativa.	39
3.7.2. Técnica de inmunomicroscopía (Decorado).	40
3.7.3. Ultracortes	40
3.8. Evaluación de colecciones de <i>Lycopersicon</i> spp.	41
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	44
4.1. Detección de virus por el método de ELISA.	44
4.2. Detección de virus por medio de plantas indicadoras.	48
4.3. Transmisión por injerto.	50
4.4. .Virus detectados con inclusiones virales	50
4.5. Virus encontrados en el microscopio electrónico.	53

4.5.1. Inmunomicroscopía (Decorado).	53
4.5.2. Tinción negativa	53
4.5.3. Ultracortes.	55
4.5.4. Resultados y sus relaciones entre las técnicas de la detección de virus	55
4.6. Evaluación de materiales resistentes de <i>Lycopersicon</i> spp.	58
V. CONCLUSIONES.	62
VI. LITERATURA CITADA.	64

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Pág.
1. Virus y viroides que afectan al tomate	4
2. Relación de materiales enfermos colectados en Yucatán.	35
3. Relación de plantas diferenciales utilizadas.	37
4. Descripción de los tratamientos en la prueba de tolerancia a cultivares de <i>Lycopersicon</i> spp.	43
5. Pruebas positivas obtenidas con el método de ELISA.	45
6. Resultados de las pruebas realizadas con plantas diferenciales.	48
7. Respuesta obtenida al inocular plantas diferenciales con hojas de tabaco cv. Hicks enfermas, procede de la muestra de tomate Peto 82 Oxxkutzcab, Yuc. 1993	49
8. Inclusiones virales observadas al microscopio compuesto	52
9. Resultados obtenidos en las diferentes técnicas que se realizaron para la detección de virus en chile y tomate de Yucatán, México. 1993	57
10. Análisis de varianza y significancia para los niveles de infección a virosis en plantas de <i>Lycopersicon</i> spp. evaluados en Oxxkutzcab, Yuc.	59
11. Prueba de comparación de medias (Tukey) con $\alpha = 0.01$ para los niveles de infección a virosis en los tratamientos evaluados en Oxxkutzcab, Yuc.	60

INDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
1A. Síntomas de virosis severa en una planta de tomate var. Río Grande. Oxkutzcab, Yuc. 1994.	51
1B. Jaspeado desarrollado en <i>N. tabacum</i> cv. White Burley inoculada con muestras de chile dulce de Oxkutzcab, Yuc.	51
1C. Mosaico en hojas de <i>N. tabacum</i> cv. Hicks, inoculada con la muestra de tomate Peto 82, Oxkutzcab, Yuc.	51
1D. Planta de chile pimiento inoculada por injerto de chile habanero de Oxkutzcab, Yuc. 1993	51
2A. Inclusión granulosa (Ig) y cristalinas (c) dentro del núcleo (N) (TEV) en <i>N. tabacum</i> cv. White Burley. Muestra de chile dulce, Oxkutzcab, Yuc.	54
2B. Inclusión vacuolada (TMV) en <i>N. tabacum</i> cv. Hicks. Muestra de chile dulce, Oxkutzcab, Yuc.	54
2C. Microcristales (TRSV) en <i>N. tabacum</i> cv. White Burley. Muestra de tomate Peto 82, Oxkutzcab, Yuc.	54
2D. Virus de varilla flexible (TEV) observadas al microscopio electrónico. en chile habanero de Muna, Yuc. 1993	54
3A y B. Partículas de varilla y poliédricas observadas en el microscopio electrónico con tinción negativa, en las muestras de tomate Peto 82 y chile habanero de Oxkutzcab, Yuc., respectivamente.	56
3C y D. Inclusión citoplasmática formada por partículas de virus (v) e inclusión amorfa (a) no densa con partículas y material citoplasmático (TRSV), observadas en el microscopio electrónico con ultracortes en la muestra de chile habanero de Oxkutzcab, Yuc. 1993.	56

RESUMEN

En el estado de Yucatán, la enfermedad denominada "chino del tomate" desde 1988, agudizó el problema viral en los cultivos de chile y tomate, de tal manera que la producción de estos cultivos a partir de 1989 ha disminuido más del cincuenta por ciento. A raíz de éste problema y por desconocimiento de los agentes causales se planteó la realización del presente trabajo con los siguientes objetivos: detección de virus en materiales de chile, tomate y maleza procedentes de Yucatán utilizando serología, con el método de ELISA, plantas prueba y microscopía electrónica y evaluación de materiales de *Lycopersicon* spp. resistentes a virosis.

Se colectaron 35 muestras de chile (*C. annuum* y *C. frutescens*), tomate (*L. esculentum*) y maleza en los municipios de: Oxkutzcab, Muna, Dizdzantún, Motul, Conkal, Ixil, Tetiz, Mérida y Temozón, Yucatán.

Con el método de ELISA se detectaron siete virus: mosaico del tabaco (TMV), jaspeado del tabaco (TEV), mancha anular del tabaco (TRSV), enrollamiento de la hoja de papa (PLRV), X de la papa (PVX), marchitez manchada del tomate (TSWV) y moteado atenuado del chile (PMMV). Estos virus se encontraron solos y en asociaciones.

Con plantas indicadoras se confirmó la presencia de los virus TMV, TEV, TSWV y PVX. Con inclusiones virales se encontraron los correspondientes a TMV, TEV y TRSV. En el microscopio electrónico con tinción negativa se observó TMV y TRSV, con inmunomicroscopía el TEV y con ultracortes el virus TRSV.

En la evaluación de materiales resistentes de *Lycopersicon* spp. resultaron altamente resistentes a virosis la colectas 2 094 (*Lycopersicon esculentum* Mill), 22 y 23 (*Lycopersicon hirsutum*). El primer material forma parte de un programa de mejoramiento genético en el INIFAP de Zacatepec, Morelos. Esta especie es muy prometedora para el estado de Yucatán aunque lo más conveniente es evaluar la variedad con características comerciales próxima a

ser liberada. Los otros materiales pueden ser utilizados en nuevos programas de mejoramiento de especies cultivadas de tomate, así como también las colectas 25 y 34 de *L. hirsutum* que se comportaron como resistentes.

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de chile verde y tomate son los más importantes en México por su superficie y volumen con respecto a otras hortalizas. En 1992 la superficie cosechada de chile verde fue de 98 185 hectáreas, con la cual se obtuvo una producción de 883 866 toneladas. De igual manera, de tomate se cosecharon 77 785 hectáreas y se produjeron 1 431 220 toneladas. En el estado de Yucatán éstas dos hortalizas ocuparon en 1993 el 2º y 3º lugar respectivamente, después de la sandía y tuvieron un incremento del 6% con respecto a 1992. La superficie cosechada de chile verde fue de 694 hectáreas con la que se produjo 4 858 toneladas, de tomate se cosecharon 684 hectáreas y se produjeron 9 370 toneladas (SARH, 1993).

A finales de 1988 y durante el ciclo otoño-invierno se presentó primeramente en el área centro-norte (municipio de Dzidzantún, Yucatán) y posteriormente en el resto del Estado, una enfermedad de origen viral que ataca al tomate que según los productores, está asociada con la presencia de mosquita blanca (*Bemisia tabaci* Genn) (Díaz y Ramírez, 1991). Posteriormente se confirmó por Díaz (1991) que el insecto es el vector de la enfermedad. Aunque varios investigadores han denominado a la enfermedad como "chino del tomate" y señalan que parece ser causada por un geminivirus (Díaz y Ramírez, 1991), hasta la fecha se desconocen el o los agentes causales que están involucrados.

Los síntomas de esta enfermedad empiezan con un mosaico tenue a nivel de nervaduras de las hojas jóvenes, posteriormente el mosaico se acentúa contrastando los colores verde claro-verde oscuro, hay deformación de hojas con abolsamiento y posterior arrugamiento hacia el haz y con menor frecuencia hacia el envés. En ataques severos la planta queda achaparrada con las hojas deformes, enchinadas y no produce frutos (Díaz, 1991).

Debido a la presencia de esta enfermedad, la producción de tomate ha disminuido considerablemente. En 1989 se sembraron 4 690 hectáreas de hortalizas de las cuales el 29% fue tomate, pero la producción disminuyó y el daño representó una pérdida del 54% de la superficie sembrada (Díaz y Ramírez, 1991).

En la actualidad el problema todavía es muy grave y no se han encontrado soluciones efectivas. Existe para el Estado un paquete tecnológico que ha dado resultado, pero en ocasiones resulta demasiado caro y consiste de: cubrir con malla (organdí o agribón) los semilleros, sembrar alrededor de la parcela un cultivo trampa, por ejemplo maíz, asperjar con frecuencia con thiodan para controlar la mosquita blanca y/o cubrir todo el cultivo durante un mes después del trasplante con agribón 17 o agribón reforzado.

El presente trabajo surge de la necesidad de conocer el o los agentes causales de la virosis presente en chile y tomate en Yucatán, así como de encontrar una variedad de tomate resistente a la enfermedad. Por lo anterior se plantearon los siguientes objetivos:

1) Detectar por el método de inmunoabsorción con enzimas conjugadas (ELISA) los diferentes virus presentes en los cultivos de chile, tomate y maleza, 2) correlacionar los resultados del método anterior con otros métodos de detección de virus y 3) evaluar especies de *Lycopersicon* en función a su tolerancia a virosis.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Enfermedades virosas del tomate y chile

2.1.1. Tomate

Jones *et al.* (1991) menciona alrededor de 40 virus y viroides que atacan al tomate (cuadro 1). De los virus más importantes del tomate, 10 son transmitidos por áfidos, cinco por mosquita blanca, dos por trips y cuatro por coleópteros, chicharritas o periquitos y otros son transmitidos mecánicamente. De los 13 virus transmitidos por nematodos solamente el virus mancha anular del tabaco es el de mayor importancia.

En Europa, EU y Medio Oriente, Watterson (1986) reporta 11 virus de importancia que atacan al tomate, como son: virus mosaico de la alfalfa (AMV), virus mosaico del pepino (CMV), punta rizada de la remolacha (CTV), doble rayado causado por el virus mosaico del tabaco y virus X de la papa (TMV y PVX), virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV), virus del enanismo arbustivo del tomate (TBSV), virus jaspeado del tabaco (TEV), virus mosaico del tabaco (TMV), virus del rizado amarillo de la hoja del tomate (TYLCV) y mosaico bandeado de la nervadura causado por virus Y de la papa (PVY).

El Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) (1990) reporta para América Central que el mosaico amarillo del tomate de reciente identificación es importante en áreas restringidas. Diseminados ampliamente, se encuentran: el virus mosaico del tabaco, virus X de la papa, virus Y de la papa y virus jaspeado del tabaco (TEV). Rodríguez (1992) en su revisión de literatura encontró que en la actualidad en el mundo se conocen cerca de 65 enfermedades de etiología viral que infectan en forma natural o artificial al tomate. Este mismo autor encontró que en México se reportan 12 enfermedades virosas de importancia: virus del chino del tomate transmitido por mosquita blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) (West), virus enanismo arbustivo del tomate (TBSV), virus chino del tomate transmitido por la mosca blanca (*Bemisia tabaci* (Genn), enfermedad perforado de la hoja del tomate, enfermedad "permanente" del tomate, virus marchitez manchada del tomate (TSWV), rizado amarillo del chile, virus mosaico del tabaco (TMV), virus jaspeado del tabaco (TEV), virus

Cuadro 1. Virus y viroides que afectan al tomate.

VECTOR	VIRUS O VIROIDES	MÉTODOS DE TRANSMISIÓN
Áfidos	Virus mosaico de la alfalfa (AMV)	M, S
	Virus mosaico del pepino (CMV)	M, S
	Virus del enrollamiento de la hoja de la papa (PLRV)	-
	Virus Y de la papa (PVY)	M
	Virus de la venación moteada del chile (PVMV)	M
	Virus del jaspeado del tabaco (TEV)	M
	Virus aspermia del tomate (TAV)	M
	Virus Perú del tomate (TPV)	M
	Red amarilla del tomate (TYNV)	-
	Punta amarilla del tomate (TYTV)	-
Pulga saltona	Mosaico de la berenjena (EMV)	M, S
Chicharritas	Punta enrollada (CTV)	-
	Enanismo amarillo de la papa (PYDV)	-
Nematodos	Mosaico de Arabis (ArMV)	M, S
	Mancha anular de la frambuesa (RRV)	M, S
	Mancha anular latente de la fresa (SLRV)	M, S
	Mancha anular del tabaco (TRSV)	M, S
	Mancha negra del tabaco (TBRV)	M, S
	Mancha anular del tomate (ToRSV)	M, S
	Punta necrótica del tomate (TTNV)	M, S
Trips	Marchitez manchada del tomate (TSWV)	M, S
	Rayado del tabaco (TSV)	M, S
Periquitos	Pseudo punta enrollada (PCTV)	-
Mosquita blanca	Enrollamiento de la hoja de tabaco (TLCV)	-
	Mosaico dorado del tomate (TGMV)	M
	Enanismo necrótico del tomate (TNDV)	M
	Enrollamiento amarillo de la hoja del tomate (TYLCV)	-
	Mosaico amarillo del tomate (TYMV)	M
Desconocido	Mosaico verde de la berenjena (EGMV)	M
	Enanismo moteado de la berenjena (EMDV) (Syn. Vena amarilla del tomate (TVYV)	M
	Mancha zonal del generanio (PZSV)	M, S
	Viroide del enanismo apical del tomate (TASV)	M
	Enanismo arbustivo del tomate (TBSV)	M
	Virus doble rayado del tomate (ToMV y PVX) [PVX]	M
	Mosaico del tomate (ToMV)	M, S
	Mosaico del tabaco (TMV)	M
	Viroide planta macho del tomate (TPMV)	M, A
	Aclaramiento de vena del tomate (TVCV)	M

M = Transmitido mecánicamente S = Transmisión por semilla o polen. Solamente ToMV, TMV, PZSV y posiblemente TSWV y EMV son transmitidos por semilla o polen en tomate A = áfidos

FUENTE: Jones J.B.; R.E. Stall y T.A. Zitter. 1991. Compendium of tomato diseases. APS PRESS. The American Phytopathological Society. New York. USA.

mosaico del pepino (CMV), virus mancha anular del tabaco (TRSV) y viroide "planta macho" del tomate. Sin embargo, para las siguientes enfermedades todavía se desconoce su etiología: "permanente del tomate", "perforado de la hoja", "rizado amarillo del chile" y el "enchinamiento del tomate". Estos dos últimos virus, junto con el chino del tomate son transmitidos por mosquita blanca (Velázquez, 1989; Brown y Nelson, 1988).

Para el estado de Yucatán investigadores del INIFAP, reportan en el cultivo del tomate al virus mosaico del tabaco (TMV) y al virus jaspeado del tabaco (TEV) (SARH, 1981). A partir del ciclo otoño-invierno de 1988, se reporta por Díaz y Ramírez (1991) una enfermedad de tipo viral denominada "chino del tomate" y que es transmitida por *Bemisia tabaci*. Genn.

2.1.2. Chile

A nivel mundial se reporta para el cultivo del chile como importantes al virus mosaico del pepino, virus mosaico de la alfalfa y virus mosaico del tabaco (Raymond, 1985). Zapata *et al.* (1992) señala que en Europa, los virus mas importantes en el cultivo del pimiento son: el virus mosaico del tabaco, virus mosaico del pepino, virus de la marchitez del tomate (TSWV), virus Y de la papa y el micoplasma amarillamiento del aster; también indica que a nivel mundial se encuentran atacando al pimiento los siguientes virus: virus mosaico del tabaco, virus X y virus Y de la papa, virus mosaico del pepino, virus mosaico de la alfalfa y virus bronceado del tomate; en América del Norte el virus jaspeado del tabaco, en Inglaterra y USA el virus rayado del tabaco (TSV); en Florida el virus mancha anular del aster; en Asia, Africa y América del Sur el virus del enrollamiento de la hoja del tabaco o tomate; en América el virus del enrollamiento de la hoja de la remolacha o tomate y en Australia, Europa y América del Norte el tomato big bud stolbur. CATIE (1993) reporta para América Central como importantes al virus mosaico del tabaco, virus del jaspeado del tabaco (TEV) y virus Y de la papa.

En México, las primeras evidencias de las enfermedades virales en el cultivo de chile, fueron consignadas en 1966 en la región de las Huastecas (Avila y Pozo, 1991).

Diferentes autores (Galindo, 1971; Delgado, 1974; Martínez, 1985) señalan que los virus responsables de los síntomas que se manifiestan en chile en México son: virus jaspeado del tabaco, virus mosaico del pepino; ocasionalmente el virus Y de la papa, virus mancha anular del tabaco y últimamente un agente viral caracterizado como geminivirus (Bron y Nelson, 1988) transmitido por mosquita blanca, que en complejo con otros virus ya conocidos causan pérdidas hasta del 100% en la región de las Huastecas, Yucatán y otros Estados (Terán y Cruz, 1991). También se reporta el virus rizado amarillo el chile que origina "enchinamiento" o "rizado amarillo" en chile y tomate y se ha reportado en el sur de Tamaulipas y norte de Veracruz, donde ha causado una reducción hasta del 80% (Garzón, 1987). El virus huasteco del chile (VHCh) es un geminivirus que se encuentra asociado con la enfermedad "rizado amarillo" y se distribuye en el estado de Tamaulipas (Guevara *et al.* 1993). También Garzón (1982) reportó la enfermedad de la planta atigrada del chile en Puebla.

En Yucatán para el chile habanero se señalan enfermedades virosas con síntomas de enchinamiento y mosaicos (Piña, 1984). Díaz (1993) reporta que la enfermedad conocida como "chino del tomate" ataca también a los chiles regionales (habanero, xcatic y dulce).

2.2. Características de las enfermedades virosas y virus

Los virus son parásitos submicroscópicos que se multiplican solo dentro de células vivas y causan enfermedades al hombre, animales, plantas y microorganismos. Un virus puede atacar a varias plantas y una planta puede ser atacada por varios virus; existen mas de un millar de virus y la mitad afectan a las plantas. En su forma mas simple los virus constan de ácido nucleíco (ADN, ARN) y proteínas; el tamaño y la forma es variable (polihédrica, varilla, baciliforme, etc.) y producen enfermedades alterando el metabolismo de las células. Los síntomas que presentan las plantas son variados, mostrando en forma general los siguientes: clorosis moteado o rayado, enanismo, deformación de tallos, hojas y flores, embolsamientos, crecimiento anormal, quemaduras, amarillamiento y enchinamiento. Los virus son transmitidos de una planta enferma a una planta sana de diversas maneras, entre estas se encuentra la propagación vegetativa, mecánicamente o a través de savia, por semilla, polen,

ácaros, insectos, nematodos, cúscura y algunos hongos; además algún virus en particular puede ser transmitido por más de una de estas formas (Agrios, 1988).

2.2.1. Virus del mosaico del tabaco (TMV) (Tobacco Mosaic Virus)

2.2.1.1. Importancia. El virus mosaico del tabaco a menudo se le encuentra asociado con el virus jaspeado del tabaco y el virus mosaico del pepino (Watterson, 1986; Pérez, 1988). Ha sido reportado desde 1886, y se ha difundido por todo el mundo, atacando a más de 200 especies de plantas (Agrios, 1988). En México se reporta en Sinaloa desde 1973 (Fuentes, 1974), Jalisco (Martínez *et al*, 1986), Puebla (Garzón, 1989) y Michoacán (Ramírez *et al*, 1990). El virus mosaico del tabaco y el virus mosaico del tomate (ToMV) son mencionados juntos por su poca diferencia en cuanto a rango de hospedantes, serología y protección cruzada (Jones *et al*, 1991). En tomate los daños varían de 5 a 25% dependiendo de la época de infección (Pinto, 1993).

2.2.1.2. Síntomas. Los síntomas característicos causados por las razas comunes de este virus son: plantas achaparradas con moteado leve a severo y distorsión de foliolos. Dependiendo de la raza de virus, los frutos desarrollan moteados, bronceados, mosaico amarillo, raya necrótica o anillos (Watterson, 1986; Jones *et al* 1991; Agrios, 1988; CFOPR, 1983).

Jones *et al*, (1991) señala para el TMV los siguientes síntomas: plantas infectadas en edad temprana presentan enanismo con amarillamiento, hojas enrolladas, reducidas en tamaño y malformadas. La raza Aucuba puede causar fuerte moteado amarillo. Cultivares de tomate que poseen el gen wilt (wt) presentan fuerte enrollamiento de la hoja y de los foliolos cuando son infectados por el TMV en edad temprana. Aunque los frutos no tienen una marcada desfiguración, presentan maduración desigual y reducción en tamaño y número. En general los síntomas varían grandemente en intensidad de acuerdo a la raza, cultivar, tiempo de infección, intensidad de luz y temperatura. Otros factores que contribuyen a la severidad de los síntomas son: humedad del suelo, deficiencias de nitrógeno y boro y la sensibilidad del cultivar.

2.2.1.3. Agente causal. El virus mosaico del tabaco pertenece al grupo de los Tobamovirus, la partícula tiene forma de varilla rígida de 300 nm de largo por 18 nm de ancho, está formado por ARN, su peso molecular en daltones es de 2×10^6 , su punto de inactivación térmica es de 85 a 95°C, el punto máximo de dilución $1:10^6$, tiene una longevidad *in vitro* de más de 128 días y resiste a la desecación por más de un año. Se purifica por medio de precipitación con sulfato de amonio, centrifugación diferencial o filtración en gel-agar (Hollings, 1983).

Las plantas infectadas presentan inclusiones citoplasmáticas cristalinas en forma de placas hexagonales (Cárdenas, 1986).

2.2.1.4. Ciclo de la enfermedad. Jones *et al*, (1991) señala que el rango de hospedantes de este virus es muy amplio, incluye muchas especies de solanáceas y otras especies de las familias Aizoaceae, Amaranthaceae, Chenopodiaceae y Scrophulariaceae. Pinto (1993), indica que el virus posee más de 50 géneros y 300 especies de plantas hospederas incluyendo herbáceas y leñosas como vid, grosellero, papa y otras como tomate, frijol y tomate de cáscara. Otros autores reportan como hospederos de este virus a más de 100 especies de 300 familias (Zaitlin and Israel, 1975).

Experimentalmente, con inoculación mecánica, el virus induce lesiones locales en las siguientes especies: *Nicotiana tabacum* L. var. Samsun, *N. tabacum* var. Xanthi, *N. glutinosa* L., *Datura stramonium*, *Phaseolus vulgaris* L. var. pinto, *Chenopodium amaranticolor* y *Ch. quinoa*; son infectadas sistémicamente: *Lycopersicon esculentum* Mill, *Capsicum annuum* y *Gomphrena globosa* (Cárdenas, 1986; Pinto, 1993).

Este virus se transmite fácilmente de plantas enfermas a sanas mecánicamente por trabajadores, maquinaria e instrumentos de labranza y poda; residuos de cultivos anteriores pueden servir como fuente de inóculo; la semilla de tomate puede llevar este virus en el mucílago externo, testa o en el endospermo y se puede transmitir a plántulas en un alto porcentaje. Fácilmente se transmite por savia, injerto y cúscuta (Watterson, 1986; Jones *et al* 1991; y Agrios, 1987).

2.2.1.5. Prevención y control. Las siguientes medidas ayudarán en el control y la no propagación del virus (Watterson, 1986; Jones *et al*, 1991; León, 1982; Manjarréz, 1986).

- a). Lavarse las manos con agua y jabón antes del trasplante para inactivar el virus.
- b). Lavarse las manos o las herramientas con leche descremada, hipoclorito de sodio al 1%, formalina al 3% o solución de fosfato trisódico (Na_3PO_4) al 10%.
- c). Evitar fumar dentro del cultivo.
- d). Usar semilla certificada y/o tratarla con solución de fosfato trisódico (Na_3PO_4) al 10% por un tiempo mínimo de 15 minutos o tratar la semilla seca con calor de 2 a 4 días a 70°C .
- e). Realizar labores culturales como barbecho y destrucción de plantas hospederas.
- f). No sembrar en campos donde las raíces de los desechos de cultivos anteriores están todavía presentes. Evitar plantar en suelos donde anteriormente se hayan sembrado cultivos como tabaco, tomate, chile o berenjena; en caso contrario eliminar la fuente de contaminación con bolsas de turba, estiércol o una lámina de nutrientes.
- g). Asperjar leche sobre el follaje del cultivo, esto reduce la transmisión mecánica del virus.
- h). Esterilizar el suelo con vapor por 30 minutos a 90°C .
- i). La inoculación de plántulas susceptibles con razas atenuadas de TMV se práctica en cultivos de invernaderos en Europa, pero existe el riesgo de seleccionar razas virulentas.

Otra opción es el control genético mediante variedades comerciales tolerantes que ya existen en varios países del mundo, en México todavía no están muy difundidas.

Se pueden usar cultivares que tengan varios genes de resistencia, muchos ya han sido desarrollados como la que lleva el gen Tm-2-2 la cual confiere resistencia a todas las razas

comunes de virus del TMV, pero en condición de heterocigosis puede desarrollar necrosis severa en los frutos si hay infección con este virus. Los genes Tm-1 y Tm-2 son efectivos solamente contra ciertas razas. Zapata *et al* (1992) reporta que en Italia existen híbridos de pimiento que se cultivan en invernadero que poseen el gen Li de Holmes de hipersensibilidad, que confiere resistencia a las cepas comunes de TMV (Patotipo O); sin embargo, éstos son susceptibles a los patotipos 1 y 2. Pinto (1993) reporta como fuentes de resistencia en Chile a las variedades Yolo Wonder A, Yolo Wonder L. y California Wonder.

2.2.2. Virus del jaspeado del tabaco (TEV) (Tobacco Etch Virus)

2.2.2.1. Importancia. Este virus se le encuentra ocasionalmente causando pérdidas en cultivos de tomate. También infecta a tabaco, Chile y tomate de cáscara (Cárdenas, 1986). Cuando este virus se encuentra asociado con el virus del mosaico del tabaco, la enfermedad se presenta más severa. Se reporta en Europa, E.U. Medio Oriente (Watterson, 1986), América del Norte (Zapata *et al*, 1992), América Central (CATIE, 1990). También se presenta en Canadá, E.U. México, Puerto Rico y Venezuela donde ha causado pérdidas económicas importantes en cultivos de tabaco, Chile y tomate (Purcifull and Hiebert, 1982). Jones *et al*, (1991) señala que TEV está limitado a Norte y Sudamérica desde la década de los treinta. Actualmente ha causado pérdidas en regiones de Venezuela y Florida. En Centro América se le llama virus del grabado del tabaco (CATIE, 1990).

En México se le encontró en Sinaloa desde 1973, en la actualidad se presenta en Jalisco, Puebla, Las Huastecas y Yucatán. (Fuentes, 1974; Martínez *et al* 1986; Avila y Pozo, 1991; SARH, 1981). En México en el cultivo de Chile causa daños desde 40 a 100% (Pinto, 1993)

2.2.2.2. Síntomas. Los síntomas característicos de este virus son: moteado intenso, amarillamiento y rugosidad de las hojas. Los síntomas son mas intensos que en el caso del PVY (Jones *et al*, 1991).

El autor anterior menciona que cuando las plantas son infectadas en edad temprana, quedan severamente achaparradas, los frutos están moteados y no alcanzan el tamaño comercial y los rendimientos son bajos. Watterson (1986) por otro lado dice que los síntomas se pueden confundir con los del TMV porque aparecen moteados leves a severos en las hojas

junto con necrosis a lo largo de las venas de la hoja. Agrios (1988) menciona que en Chile las hojas presentan moteado, mosaico y distorsión, los frutos son distorcionados y la planta se achaparran. En tomate las plantas son enanas y las hojas moteadas y distorcionadas; además se pueden presentar: anillos cloróticos, aclaramiento de venas, manchas cloróticas, grabado necrótico en tabaco, mosaico, grabado y marchitez, deformación de frutos y hojas, achaparramiento y menor número de frutos en Chile (Pinto, 1993).

2.2.2.3. Agente causal. Este virus pertenece al grupo Potyvirus y sus partículas son varillas filamentosas flexibles de 12 a 13 nm de diámetro y 730 nm de longitud, y con una cadena de RNA (Jones *et al*, 1991). Su punto de inactivación térmica va de 54 a 58°C, su punto final de dilución es de 10^{-4} , y la longevidad *in vitro* de 5 a 10 días. Se purifica por centrifugación de gradientes de densidad evitando su descomposición durante la clarificación (Purcifull and Hiebert, 1982).

Este virus causa inclusiones cristalinas en el núcleo de formas distintas (Jones *et al*, 1991). En tomate, tabaco y tomate de cáscara forma inclusiones citoplasmáticas, amorfas, granulosas y cristalinas dentro del núcleo (Cárdenas, 1986). En Chile, *Chenopodium amaranticolor* y *Datura stramonium* forma inclusiones celulares en forma de placas rectangulares (Pinto, 1993).

Según Jones *et al* (1991) se han identificado variantes de razas en base al desarrollo de síntomas en variedades de tabaco y *Datura stramonium*. Dos razas del TEV fueron diferenciadas en Florida por su virulencia en tomate.

2.2.2.4. Ciclo de la enfermedad. El virus es fácilmente transmitido por savia a 120 especies de 19 familias de dicotiledóneas: se infectan sistémicamente y presentan distorsión foliar *Nicotiana tabacum* Xanthi, *Datura stramonium* y *L. esculentum* Mill; reaccionan con lesiones locales *Chenopodium quinoa* Willd, *Ch. amaranticolor* L., *Cassia obtusifolia* L. y *Physalis peruvians* L. (Purcifull and Hierbert, 1982; Cárdenas, 1986; Jones *et al*, 1991).

En tomate, la enfermedad está asociada con la infección de otras solánaceas cultivadas, especialmente chile y maleza como *Solanum carolinense*, *Cirsium vulgare*, *Chenopodium album* y *Cassia obtusifolia* en Norte y Suramérica. Otras fuentes de virus son: *Datura stramonium*, *Solanum nigrum*, *S. seaforthianum* y *Linaria canadiense* (Jones *et al*, 1991; Watterson, 1986).

Se transmite mecánicamente, pero mas fácilmente por diez especies de áfidos de manera no persistente. *Myzus persicae* es un eficiente vector. No hay reportes de transmisión por semilla (Jones *et al*, 1991).

2.2.2.5. Prevención y control. Para el control y prevención del virus se pueden realizar las siguientes prácticas: aislando el cultivo de tomate de las áreas donde hay chile, se retrasa la entrada del virus ya que éste último cultivo es la mejor fuente de inóculo para áfidos; el aplicar aceite mineral semanalmente reduce grandemente la velocidad de diseminación por áfidos (Jones *et al*, 1991). Complementariamente se puede llevar a cabo con un programa de control de insectos o aspersiones de aceites en cultivos extensivos; también se pueden plantar variedades resistentes al virus del mosaico del tabaco para reducir el sinergismo entre los dos virus (Watterson, 1986).

En tomate se reportan variedades resistentes pero no comerciales, en chile se pueden usar Green Leaf, Atotonilco, Chile de árbol y piquín largo (Watterson, 1986; Pinto, 1993).

Otras medidas que han resultado, son recomendadas por Martínez (1989): producir plántulas en invernadero, lavarse las manos, desinfectar instrumentos y semilla, destruir maleza, barbechar después de la cosecha e incrementar la población de plantas para eliminar las enfermas.

En chile se ha incorporado un gen recesivo resistente al TEV de *Capsicum chilense* a *Capsicum frutescens* (f) o Tabasco con alternancia de autofecundaciones y retrocruzas (Green-leaf, 1986).

2.2.3. Virus X de la papa (PVX) (Potato Virus X).

2.2.3.1. Importancia. Se distribuye en todo el mundo, produciendo un 10% de daño, pero puede ser aún mayor (Pinto, 1993).

2.2.3.2. Síntomas. Muchas variedades de plantas llevan el virus sin presentar síntomas, en algunos casos se puede presentar moteado intervenal así como un achaparramiento y deformaciones del follaje. Las variantes virus B de la papa produce moteado atenuado en algunas variedades y estriado, UP-TO-DATE ocasiona necrosis del cogollo (Pinto, 1993). Watterson (1986) señala que la asociación con el virus del mosaico del tabaco causa doble rayado.

2.2.3.3. Agente causal. Pertenece al grupo Potexvirus y la partícula es una varilla flexible con una cadena de ARN, miden 515 nm de largo x 13 nm de ancho. Su punto de inactivación térmica es de 70°C, su longevidad *in vitro* varía de semanas a un año y su punto de dilución está entre $1:10^{-5}$ y $1:10^{-6}$. Su peso molecular es de 2.1×10^6 daltones con 6% de proteína. El virus se purifica con savia de *Nicotiana glutinosa* tratada con sulfato de amonio y se dializa, o bien a través de columnas de gel o gradiente de densidad (Jones *et al.*, 1991).

2.2.3.4. Ciclo de la enfermedad. Presenta un rango de hospederos reducido a solanáceas como tomate, tabaco, papa y maleza (Jones *et al.*, 1991).

En *N. rústica*, *N. glutinosa*, *N. tabacum* cvs. White Burley, Xanthi, Debney y Hicks produce mosaico con inoculación mecánica.

Se transmite fácilmente en forma mecánica, por contacto entre plantas enfermas y sanas, por trabajadores, maquinaria o instrumentos de labranza (Watterson, 1986).

2.2.3.5. Prevención y control. Se recomienda sembrar semilla certificada para evitar la diseminación. No trasplantar tomate cerca de cultivos de papa, ni plantarlos en campos donde anteriormente hayan sido sembrados con papa. Sembrar variedades de tomate resistentes a TMV para que no desarrolle reacción del rayado con el PVX (Watterson, 1986).

2.2.4. Virus de la mancha anular del tabaco (TRSV) (Tobacco Ringspot Virus)

2.2.4.1. Importancia. No se menciona su importancia pero se reporta que es común en Norte América (Jones *et al*, 1991). Stace (1970), señala que se distribuye en E.U., Canadá y Australia. En México Manjarréz (1986) lo reporta en Sinaloa en el cultivo de tomate.

2.2.4.2. Síntomas. En tomate causa en su mayor parte mosaico y manchas anulares, algunas veces acompañado por varios grados de necrosis sistémica (Agrios, 1988). Según Stace (1970) existen muchas variantes menores, que en el cultivo del tabaco producen síntomas como lesiones necróticas, lesiones locales, achaparramiento, anillos cloróticos, manchas necróticas locales, clorosis y bandeado de las nervaduras.

2.2.4.3. Agente causal. Pertenece al grupo de los Nepovirus, sus partículas son poliédricas que miden de 28 a 30 nm de diámetro con multicomponentes y está formado por ARN (Cárdenas, 1986; Jones *et al*, 1991). Según Stace (1970) contiene tres clases de partículas: capas proteicas vacías sin ARN, nucleoproteína no infecciosa y nucleoproteína infecciosa. La cadena infecciosa tiene un peso molecular de 2.2×10^6 y la no infecciosa de 1.2×10^6 daltones. Este virus es relativamente estable y se purifica usando cloroformo butanol, o con carbón activado seguido por la centrifugación de gradientes de densidad, o adición de sulfato de amonio (200 g/l de savia clarificada) (Ie, 1970).

La savia de *Petunia* diluida con agua 1:5, tiene un punto de inactivación térmica de 65°C, aunque la del mirtillo se inactiva a 55°C. El punto máximo de diluciones es de 10^{-4} , la savia es infectiva después de 6 a 10 días a temperatura ambiente, tres semanas a 18°C y varios meses a 2°C (Ie, 1970). Puede inducir la formación de diferentes tipos de inclusiones, según las plantas hospedantes: en soya las inclusiones son vacuoladas, en *Datura*, sandía y pepino cristalinas y amorfas granulosas e irregulares en otros hospedantes (Cárdenas, 1986).

2.2.4.4. Ciclo de la enfermedad. El rango de hospederos de esta enfermedad es muy amplio, incluye cultivos perennes, herbáceos y maleza (Jones *et al*, 1991). Infecta en condiciones de campo a cultivos como tomate, pepino y sandía (Cárdenas, 1986).

Experimentalmente se ha transmitido a 38 géneros de 17 familias de plantas. En *Cucumis sativus* presenta lesiones locales cloróticas, moteado, enanismo y distorsión apical severa. *Nicotiana tabacum* Xanthi, *N. glutinosa* y *N. clevelandii* muestran lesiones locales necróticas, anillos y manchas anulares (Stace, 1970; Cárdenas, 1986); *Lycopersicon esculentum* muestra manchas necróticas pero es difícil de infectar; *Phaseolus vulgaris* presenta manchas necróticas en hojas inoculadas, hojas infectadas sistémicamente presentan manchas y anillos y el punto de crecimiento se necrosa; *Vigna sinense* nos dá lesiones locales necróticas, necrosis apical y marchitez; *Chenopodium amaranticolor* y *Ch. quinoa* presentan manchas necróticas locales (Stace, 1970).

Se transmite por nematodos del género *Xiphinema* y *Longidorus* spp y mecánicamente (Jones *et al*, 1991). Se menciona que es transmitido por adultos y tres estados larvales del nematodo *Xiphinema americana*. Se transmite con menos eficiencia por el ácaro *Tetranychus*, chapulines del género *Melanoplus*, pulga saltona del tabaco (*Epitrix hirtipennis*) y por áfidos *Myzus persicae* y *Aphis gossypii*. En tomate no se transmite por semilla, pero rara vez en tabaco, melón y pepino (Stace, 1970).

2.2.4.5. Prevención y control. Se reporta a *Lycopersicon esculentum* var. Cerasiforme con cierta tolerancia a este virus (Mota, 1991).

2.2.5. Virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV) (Tomato Spotted Wilt Virus)

2.2.5.1. Importancia. Esta enfermedad se distribuye en todo el mundo en regiones subtropicales y tropicales, donde ha causado pérdidas en tomate y otros cultivos, se mencionan específicamente el sur de Australia donde se describió por primera vez en 1915; Argentina, Hawaii y algunas áreas de E.U. en Louisiana, Mississippi, Arkansas, Florida, Alabama, Georgia y Tennessee (Jones *et al*, 1991; Francki y Hatta, 1981).

En México, Verdugo (1989) la reportó en Sinaloa en el año de 1986 causando daños de importancia en tomate y Ramírez *et al* (1990) lo menciona en Michoacán.

2.2.5.2. Síntomas. Los síntomas varían, presentándose clorosis, necrosis, enanismo y achaparramiento de la planta. En tomate se presenta un bronceado en las hojas jóvenes, posteriormente se desarrollan numerosas manchas oscuras pequeñas y el meristemo apical puede morir. Se conocen diferentes razas de este virus que causan distintos síntomas en tomate, estos son: muerte apical, necrosis, mancha anular, mosaico leve y moteado severo deformado (Watterson, 1986; Francki y Hatta, 1981). Las plantas afectadas pueden quedar totalmente achaparradas y tener las hojas dobladas semejando una marchitez, las hojas viejas se tornan amarillas. Las plantas infectadas en edad temprana no producen frutos, si la infección llega más tarde, los frutos tienen manchas anulares cloróticas y los frutos verdes presentan áreas grandes con ligeros anillos concéntricos, que en la madurez se hacen más visibles y se convierten de color rojo y blanco o rojo y amarillo. En el tallo también se observan manchas brillantes rayadas y con terminaciones veteadas (Watterson, 1986; Jones *et al*, 1991).

2.2.5.3. Agente causal. Este virus pertenece al grupo Tospovirus, sus partículas son isométricas, miden 70 nm de diámetro y 90 nm de longitud y contienen ARN. La partícula tiene 20% de lípidos, 7% de carbohidratos y 5% de ARN (Francki y Hatta, 1981). Las partículas tienen una envoltura de tipo proteico, lo cual puede ser removida por detergentes no iónicos (Jones *et al*, 1991). Es uno de los virus mas inestables a pH bajos en la savia, el punto de inactivación térmica es de 40-46°C, la longevidad *in vitro* a temperatura ambiente es de 2 a 5 horas y el punto final de dilución está entre 2×10^{-2} y 10^{-3} . La purificación se dificulta por su inestabilidad, sin embargo, el virus se extrae de *Nicotiana glutinosa* usando agentes reductores como sulfito de sodio y Na-EDTA, se concentra y purifica mediante centrifugación diferencial y uno o dos ciclos en gradientes de densidad en sacarosa. (Francki y Hatta, 1981).

Los autores anteriores señalan que algunas inclusiones o viroplasmas consisten de bandas gruesas electrodensas con estrías de 5 nm con material oscuro difuso alrededor de ellos; otras consisten de agrupaciones o conjuntos de tubulos aproximadamente de 40 nm de ancho con un hoyo central de 10 nm de diámetro y que están entremezclados con el retículo endoplas-

mático. Jones *et al* (1991) afirma que los cuerpos de inclusión aparecen como partículas de virus con retículo endoplásmico hinchado, con red escasa o estructuras compactas; la estructura y el teñido aparecen en un rango amplio de hospederos, incluyendo ornamentales, lo cual es importante para su diagnóstico. Francki y Hatta (1981) nuevamente señalan que se han aislado muchas variantes menores del virus que manifiestan síntomas, que difieren en severidad, las más estables e importantes son: tizón de las yemas, (TB), necrosis (N), mancha anular (R), atenuada (M), muy atenuada (VM) y la variante tizón de las yemas del tomate entre otras.

2.2.5.4. Ciclo de la enfermedad. Este virus infecta a 166 especies de plantas de 34 familias (27 dicotiledóneas y 7 monocotiledóneas), incluyendo solanáceas, compuestas y leguminosas. Se mencionan como reservorios del virus, cultivos perennes, ornamentales y maleza (Francki y Hatta, 1981; Jones *et al*, 1991). Es transmitido mecánicamente y por trips de manera persistente, se reportan como vectores nueve especies, las más importantes son: *Trips tabaci* Lind., *Frankliniella schultzei* (Trybom), *F. occidentalis* (Perg), y *F. fusca* (Hind), éstas últimas dos especies son importantes en el sureste de E.U. y México. Los trips pueden adquirir los virus de sus hospederos solo en estado larval y ser infectivos después de la metamorfosis a adulto. También se reporta la transmisión por semilla en *Cineraria* y tomate, encontrándose solo en la testa de la semilla y no en el embrión (Watterson, 1986; Jones *et al*, 1991; Francki y Hatta, 1981).

Se transmite fácilmente por savia añadiéndole al amortiguador neutro, un agente reductor como sulfito de sodio 0.01 M pH 7. Las especies de diagnóstico son: *Petunia hybrida* Vilm produce lesiones locales grandes de color café; *Cucumis sativus* L. dá lesiones cloróticas pequeñas con centros necróticos, *Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun NN, dá lesiones locales necróticas, después un mosaico, deformación de hojas y manchas necróticas; *N. tabacum* L. cv. *White Burley*, *N. glutinosa* L. y *N. clevelandii* A. Gray, presentan manchas grandes y lesiones locales necróticas seguidas por clorosis intervenal, mosaico, necrosis y clorosis general respectivamente; *Vinca rosea* L. produce lesiones locales oscuras seguida de clorosis, mosaico y deformación de hojas; *Tropaeolum majus* L., presenta síntomas sistémicos como manchas bronceadas en las hojas y necrosis (Francki y Hatta, 1981).

2.2.5.5. Prevención y control. Jones *et al* (1991) menciona que por el amplio rango de hospederos y su presencia en maleza y ornamentales es muy difícil eliminar esta enfermedad; el control químico del trips tampoco es efectivo, porque antes de que el producto mate al insecto, el virus ya se transmitió; solo señalan como alternativa parcial el uso de cubiertas reflejantes abajo del cultivo de tomate o acolchados y usar cultivares resistentes cuando estén disponibles. Watterson (1986) propone eliminar trips con aplicación temprana de insecticidas sistémicos para reducir vectores y la enfermedad, erradicar maleza y hospederas ornamentales; *Lycopersicon pimpinellifolium* ha resultado resistente y esta se ha incorporado a cultivares de tomate Hawaiian, Pearl Harbor y Hawaii N-65. Manjarréz (1986), sugiere eliminar malezas, restos del cultivo anterior y combatir químicamente a los trips.

2.2.6. Virus del enrollamiento de la hoja de papa (PLRV) (Potato Leaf Roll Virus)

2.2.6.1. Importancia. Su distribución es mundial, principalmente en lugares donde se cultiva papa (Jones *et al*, 1991).

2.2.6.2. Síntomas. Ocasiona un enrollamiento de las hojas y las plantas presentan hábito erecto. Hay necrosis en el floema y acumulación de carbohidratos (Pinto, 1993).

2.2.6.3. Agente causal. Pertenece al grupo Luteovirus, sus partículas son isométricas de 24 nm de diámetro y contiene ARN. Posiblemente se encuentre en el floema. La savia de los extractos de pulgones y de *Physalis floridiana* tienen un punto de inactivación térmica de 70°C, su punto final de dilución es de casi 10^{-4} , la longevidad de la savia a 2°C es de 4 días, y los extractos de los áfidos de 12 a 24 horas a 25°C. El virus se purifica con cloroformo y n-butanol, se centrifuga y separa por gradientes de densidad (Jones *et al*, 1991).

2.2.6.4. Ciclo de la enfermedad. Tiene un rango de hospederos estrecho, principalmente solanáceas y *Amaranthus caudatus*, *Celosia argentea*, *Gomphrena globosa* y *Nolana lanceolata* (Jones *et al*, 1991).

La transmisión es por *Cuscuta subinclusa* y principalmente por el pulgón *Myzus persicae* de manera persistente no propagativa, transmitiéndolo mejor las ninfas que los adultos. No se transmite mecánicamente (Jones *et al*, 1991).

Las variantes se distinguen en base a severidad de los síntomas en *P. floridiana*. Se reportan como razas: síntomas atenuados del tomato yellow top y solanum yellows virus (Jones *et al*, 1991).

Como plantas indicadoras se tienen las siguientes: *Physalis floridiana* que muestra clorosis intervenal de las hojas y la planta se achaparra y *Datura stramonium* que presenta clorosis intervenal (Pinto, 1993).

2.2.6.5. Prevención y control. Se recomienda destruir los reservorios de maleza localizados cerca de cultivos para reducir la inoculación primaria. Usar insecticidas sistémicos para eliminar colonias de áfidos en el cultivo, con esto se reduce la transmisión secundaria. Realizar aspersiones de aceites minerales y usar cultivares resistentes cuando estén disponibles (Jones *et al*, 1991).

2.2.7. Virus del mosaico atenuado del chile (PMMV) (Pepper Mild Mottle Virus)

2.2.7.1. Importancia. El PMMV se reporta causando importantes daños al cultivo del chile principalmente en invernaderos en Taiwan, Francia, España, Australia, Italia, Alemania y E.U. (Green y Wu, 1991; Gebre y Marchoux, 1991; Fraile y García, 1990; Pares y Gunn, 1989; Cartie *et al*, 1985; Marte y Wetter, 1986; French *et al*, 1993). En B.C. Canadá, McDonald (1991) reporta que en cultivos bajo invernadero en 1989 y 1990, éste virus causó pérdidas anuales de 1.2 millones de dólares. Green y Wu (1991) reportan que lo han encontrado en el cultivo de chile asociado con To MV y TMV. En México no hay reportes de su presencia.

2.2.7.2. Síntomas. En España de 1982 a 1985 en el cultivo de chile (*Capsicum annuum*) bajo invernadero se encontró que PMMV fue la principal enfermedad

de este cultivo. El virus puede ser asintomático o producir síntomas ligeros en las hojas, moteado clorótico, malformación y reducción en tamaño en ocasiones necrosis en los frutos. Fue capaz de infectar todos los cultivares comerciales probados y causar daños catastróficos. Este virus se calificó como la raza España (PMMV-S) (Alonso *et al*, 1989). En Australia se reporta por Pares y Gunn (1989) que los virus mosaico del pepino y moteado atenuado del chile limitaron la producción de *Capsicum* bajo invernadero. Los síntomas se desarrollaron en plantas alrededor de las cuatro semanas después del trasplante y arriba del 80% de plantas fueron infectadas. Se menciona que la fuente de infección primaria fueron residuos de cultivos previos que permanecieron en el suelo.

2.2.7.3. Agente causal. Pertenece al grupo Tobamovirus, las partículas tienen forma de varilla recta Green y Wu (1991). El virus está formado por ARN (Wetter, 1984).

García *et al* (1990) señala que además del análisis por movilidad electroforética, las partículas en geles de agarosa son técnicas confiables y rápidas para distinguir aislamientos del PMMV de otros miembros del grupo Tobamovirus y puede ser usado para el diagnóstico. Wetter (1984) señala que la purificación del virus de plantas indicadoras inoculadas se lleva a cabo por el método de precipitación con polietilen-glicol, con varios ciclos de centrifugación diferencial. Fraile y García (1990) menciona que la purificación del PMMV se puede realizar por extracción de fenol y precipitación de etanol.

2.2.7.4. Ciclo de la enfermedad. Se reportan como plantas indicadoras a *N. glutinosa* donde el PMMV produce lesiones locales (pequeños puntos blancos) (Wetter, 1984); de las lesiones locales el virus se transfiere a *N. tabacum* Samsun para su multiplicación (Green y Wu, 1991). Todos los chiles contienen un fuerte inhibidor a la infección del virus que previene la formación de lesiones locales aún con altas concentraciones, especialmente en *N. sylvestris*, *N. glutinosa* y *N. tabacum* Xanthi. Este inhibidor no actúa en *Datura stramonium*. Las lesiones locales se transfieren a *N. tabacum* Samsun, *N. tabacum* Debney, *N. clevelandii* para su multiplicación y después se inoculan a hospederos que producen lesiones locales (Wetter, 1984).

Green y Wu (1991) señalan otras plantas indicadoras: *C. frutescens* L, *Eryngium planum* L., *Lycopersicon esculentum* Mill, *N. sylvestris* Speg y *Petunia hybrida*. El PMMV al inocularse en un grupo de especies de *Capsicum* en Taiwán se encontró que el aislamiento correspondió al patotipo P1-2. French *et al* (1993); Rast (1991) y Wetter (1984) reportan que el PMMV causa daños severos en chile, tomate y berenjena. Según Pares y Gunn (1989) el virus puede permanecer en los residuos de cultivos anteriores y servir como fuente de inóculo primario para cultivos posteriores. También se comprobó que no se trasmite por semilla. French *et al* (1993) señalan que se transmite mecánicamente por el agua de riego, esto puede ser un factor importante para la traslocación del virus.

Alonso *et al* (1989) reportan que en el sureste de Francia existen varias razas diferentes de este virus, pero solamente se han estudiado tres: Vi 76, Adam y Eve que son las mas representativas. La raza Vi76 se relaciona más con el TMV y ToMV. Adam y Eve estuvieron más relacionadas con PMMV. Adam patotipo P1-2 y P1-2-3 pertenecen al grupo PMMV-W de Italia. Betti *et al* (1991) afirman que en Italia también se ha identificado un mutante de PMMV denominado M-1.

2.2.7.5. Prevención y control. Hasta el momento no se reportan variedades resistentes de chile y tomate a este virus. Cartie *et al* (1985) reportan que en el cultivo de chile, el híbrido Blue Star tuvo 25% de síntomas en las hojas de plantas inoculadas y el híbrido Lamuyo la fructificación no fue tan baja, todas las demás variedades e híbridos fueron muy susceptibles. Tanzi *et al* (1986) reportan que los chiles (*Capsicum annuum*) híbridos Novi y Delgado, que llevan los genes L1L3 para resistencia a TMV, respondieron con síntomas débiles de necrosis a aislamientos de PMMV, esto indica que la resistencia conferida por L3 no tiene dominancia completa.

Pares y Gunn (1989) señalan que el virus puede permanecer en el suelo, en los residuos de la cosecha anterior, esto se puede prevenir quemando esos residuos para que no constituyan el inóculo primario del PMMV.

2.3. Tipos de resistencia

Rusell (1978) reconoce seis tipos de resistencia:

a) Inmunidad. Las plantas son inmunes a una enfermedad virosa en particular, cuando no muestren ninguna reacción, siempre y cuando se inoculen con el virus, y los virus no se multipliquen en ellas. Es muy importante que la inmunidad a un virus pueda existir en parientes silvestres y que ésta característica pueda ser introducida al cultivo por hibridación interespecífica.

b) Resistencia a la infección de virus. La tendencia heredable de la planta a no infectarse cuando se expone a la infección de un virus al cual es susceptible, puede ser una característica muy útil en una variedad resistente al virus, esto reduce muy significativamente la tasa de desarrollo de una epidemia en el campo, porque disminuye el inóculo inicial.

La resistencia a la infección del virus mosaico del tabaco (TMV) ha sido encontrada en algunas variedades de tomate y también en ciertas especies relacionadas de *Lycopersicon*. La resistencia a la infección con el virus Y de la papa, que puede ser transmitido por contacto o por áfidos, es también usado exitosamente en mejoramiento de nuevas variedades de papa, tabaco y chile. Algunos mecanismos de esta resistencia son: el grosor de la cutícula de las hojas en la planta hospedera, el tamaño y número de los tricomas pueden influir eficientemente en la transmisión del virus y probablemente los ectodesmos sean los principales puntos de entrada para virus transmitidos por contacto.

c) Resistencia a la traslocación del virus. Este tipo de resistencia es cuando un virus permanece localizado y hay poca (si es que hay) traslocación del virus a partir del sitio de inoculación. Varios mecanismos inhiben o disminuyen el establecimiento y la localización de traslocación de virus en una planta hospedera. La hipersensibilidad es la mas común, cuando las células infectadas mueren prematuramente, y la desventaja es que está restringida generalmente a las células epidérmicas. Los grupos de células dañadas o muertas como resultado de la hipersensibilidad son las lesiones locales. Sin embargo, la necrosis de estas células no siempre detienen la traslocación del virus. La alteración en la intensidad de luz y temperatura

puede afectar a la traslocación del virus. En *Nicotiana glutinosa* inoculada mecánicamente con TMV dan lesiones locales necróticas, pero si se inocula con altas temperaturas las plantas desarrollan una necrosis sistémica letal. La hipersensibilidad a infecciones de virus ha sido ampliamente empleada en cultivos de tabaco, tomate, papa y frijol.

Una desventaja de este mecanismo de resistencia es que hay muchas razas específicas del virus. En mejoramiento genético hay virus que rompen esa resistencia, como en los casos de la marchitez manchada en tomate, virus Y en papa (PVY) y virus mosaico del tabaco en chile y tabaco. (Mundry 1963, citado por Russel (1978).

La dispersión de virus en plantas infectadas sistémicamente es limitada o se retrasa en plantas resistentes. Algunos ejemplos nos muestran que la distribución sistémica de PLRV y PVY es baja en plantas de papas viejas que en jóvenes, y la dispersión sistémica de virus es también baja en algunas variedades de papa que en otras.

d) Resistencia a la multiplicación de virus. Los virus pueden infectar rápidamente a plantas hospedantes que muestran este tipo de resistencia, pero los virus no se multiplican en ellas en el mismo grado o tan rápidamente como en plantas mas susceptibles. Esta resistencia es dominante en ciertos ambientes y es recesivo en otros y también está asociada con tolerancia a virus en muchas combinaciones virus-hospedante.

El mecanismo de la resistencia a la multiplicación no se ha entendido bien pero tiene que ver con la remoción de la cubierta protéica del virus. Si el ensamblaje del virus es impedido en algún proceso, su multiplicación puede ser inhibida. (Chadha y MacNeill 1969, citado por Rusell (1978).

e) Tolerancia a virus. Hay tres diferentes tipos de tolerancia. La primera se relaciona con plantas en las cuales un virus es capaz de multiplicarse, pero en la cual los síntomas no aparecen, las plantas que presentan este tipo de tolerancia se les llama portadores asintomáticos. El segundo tipo se relaciona con plantas que desarrollan síntomas tan severos, pero

sufren menos daños en el periodo agrícola, este tipo se le ha denominado tolerancia a la enfermedad. En el tercer tipo de tolerancia severa, las plantas infectadas no presentan síntomas y los daños por infección son menores.

En las tres formas la concentración del virus no se reduce necesariamente. Las plantas que reaccionan a la infección de un virus con síntomas severos y daño insignificante son llamadas plantas sensitivas o intolerantes.

f) Resistencia a vectores. Las plantas que son completamente resistentes a los vectores de un virus particular, deberían por consiguiente estar libre de virus.

Se han reconocido tres principales categorías de plantas resistentes a insectos plaga: no preferente, antibiosis y tolerante. Cualquier tipo de resistencia, si el vector es estimulado a alimentarse aunque sea brevemente en plantas no preferentes y cuando se mueva a otras plantas es probable que se incremente la dispersión de virus no persistentes en un cultivo. Sin embargo, hay supuestamente pocos vectores que transmiten virus en un cultivo de plantas no preferidas.

La antibiosis inhibe el crecimiento y la multiplicación de vectores sobre plantas resistentes y puede también reducir el número de vectores que estén presentes en un cultivo y reducir la dispersión de virus en cultivos resistentes. La planta es tolerante cuando puede resistir un fuerte ataque por insectos y aún producir una buena cosecha.

2.4. Uso de plantas de tomate resistentes a virus

El cultivo del tomate es susceptible a muchas enfermedades virosas, de las cuales el mosaico del tomate, el enrollamiento apical y la marchitez manchada son de particular importancia. Las variedades resistentes de tomate han servido para el control de estas enfermedades (Russell, 1978).

Para el virus mosaico del tabaco en tomate se han detectado tres principales tipos de resistencia: tolerancia, resistencia a la infección e hipersensibilidad y se han utilizado en el

desarrollo de variedades resistentes. La tolerancia a este virus se reportó en líneas de *L. hirsutum* procedente de América del Sur. En E.U. se llevó a cabo un programa de hibridación con *L. esculentum* y se obtuvo con buena tolerancia a TMV la cual estaba controlada por tres genes recesivos. Tolerancia a TMV se ha encontrado en *L. peruvianum*, *L. pimpinellifolium* y *L. chilense*. Los híbridos entre estas especies retrasan o atenúan los síntomas de TMV. Esto sugiere que estas especies expresan resistencia a la multiplicación y tolerancia a virus. Resistencia a la infección se encontró en *L. chilense* que fue introducida a líneas de *L. esculentum* (Frazier et al, 1946, citado por Russell, 1987).

Pelham, 1969 citado por Russell, 1978, menciona que el gen denominado TM-1 controla resistencia y tolerancia a infección por TMV, el gen TM-2 y un alelo TM-2² que son localizados en el cromosoma nueve controlan la hipersensibilidad. Los híbridos son resistentes a cinco razas de TMV.

Mejoramiento para la resistencia a virus de la marchitez manchada (TSWV) se han llevado a cabo en varios países, principalmente en E.U. y Australia. Se han identificado varios tipos de resistencia, basado principalmente en una reacción de hipersensibilidad. Razas del TSWV, descubiertas en New Jersey, vencieron la resistencia de la variedad Pearl Harbor y de variedades relacionadas que han sido cultivadas en Hawai. La resistencia a la nueva raza de New Jersey del TSWV fue encontrada en la variedad Rey de los Tempranos y fue controlada por un gen recesivo. También se sabe que tres genes de resistencia y dos alelos dominantes controlan la resistencia de cinco grupos de razas de TSWV. Una colecta de *L. pimpinellifolium* fue resistente a casi todas las razas de TSWV, excepto la raza TB₂. Rey de los Tempranos expresa un similar grado de resistencia pero tiene mejores características agronómicas. Se encontró que la variedad Pearl Harbor es resistente a la raza TB₂ y está controlada por un alelo SW_{1b} y por último *L. peruvianum* muestra extrema resistencia a TSWV en el campo. (Finlay, 1953, citado por Russell, 1978)

2.5. Fuentes de resistencia del género *Lycopersicon*

El género *Lycopersicon* cuenta con nueve especies distintas y se divide en dos subgéneros:

Eulycopersicon que incluye especies de fruto rojo y Eriopersicon con plantas de frutos verdes. Todas las especies son diploides y cuentan con 24 cromosomas. La distribución natural del género *Lycopersicon*, se extiende desde el norte de Chile, al sur de Colombia y desde la costa del pacífico (incluyendo las Islas Galápagos) a la parte baja del Este, al pie de las montañas de los Andes. Se señala que el centro de origen de este género es la zona andina: Perú, Chile, Bolivia, Brasil, Ecuador y Colombia (Taylor, 1986).

Se ha observado que la mayoría de las especies silvestres del género *Lycopersicon* son fuentes de resistencia a enfermedades bacterianas, fungosas y principalmente virosas. En la actualidad se están utilizando estas especies en cruza con variedades comerciales para incorporarles esa resistencia.

2.5.1. *Lycopersicon hirsutum*.

Según Taylor (1986) esta especie pertenece al complejo "esculentum" y se distribuye del centro de Perú al norte de Ecuador, es típica de partes altas, alrededor de 500 y 3 300 m, prefiere habitats lluviosos-húmedos bien drenados y es resistente al frío.

Dos formas de esta especie están bien reconocidas, *L. hirsutum*, f. *typicum* *L. hirsutum* f. *glabratum* C.H. Mull. La primera se caracteriza por sus tallos, hojas y frutos densamente pubescentes y con fuerte fragancia, tiene flores muy llamativas y con mucho menor profundidad de división de la corola, parecida a *L. esculentum*. Esta forma está fuera de mejoramiento porque presenta un estigma muy grande. La mayoría de las colecciones de este grupo se han probado y son autoincompatibles, sin embargo, uno o dos biotipos pueden ser artificialmente autofertilizados, pero aparecen daños por endogamia. Los frutos maduros son pubescentes, color verde claro y con una pulpa desnuda. Las semillas son de color castaño, con la testa lisa, contrastando bastante con las semillas pubescentes y pálidas de *L. esculentum* y *L. pimpinellifolium*.

La especie *L. hirsutum* f. *glabratum* fue separada de las especies tipo, por su menor pubescencia en las hojas, tallos, frutos y corola pequeña. Las flores son menos llamativas y

tienden a la endogamia. Este grupo puede ser fácilmente autofertilizado y sin daño por endogamia (Taylor, 1986).

Se ha estudiado la relación de cruzamiento entre las dos formas de *L. hirsutum*. Cuando "glabratum" es usada como femenino con el polen de "typicum", las semillas producidas se redujeron alrededor de la mitad, comparado con la cruce de glabratum x glabratum. La cruce recíproca fue mucho mas difícil y solo se obtuvo el 10% de las polinizaciones. Semillas normales y plantas híbridas pueden obtenerse facilmente usando *L. esculentum* como el progenitor femenino, pero lo contrario de esta cruce no fructifica. En contraste *L. hirsutum* f. glabratum es recíprocamente compatible (Taylor, 1986).

Se han identificado dos colectas de "glabratum" (PI134417 y 134418) aparentemente resistentes a la mancha bacteriana (*Pseudomonas tomato*). Se ha notado en *L. hirsutum* resistencia a nematodos noduladores de la raíz (*Meloidogyne* sp), a *Septoria lycopersici* y a enfermedades virosas (Taylor, 1986). Rendón (1986) menciona a esta especie como una fuente de resistencia a cenicillas (*Leveillula taurica*). Dafalla, (1992) comenta que en Egipto y la India se están formando líneas comerciales que ya muestran resistencia parcial al virus Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV) y se han obtenido de cuatro especies silvestres *L. hirsutum*, *L. peruvianum*, *L. pimpinellifolium* y *L. cheesmani*. De las ocho especies silvestres de *Lycopersicon*, en cinco se encontró resistencia a TYLCV, ellas son: *L. hirsutum* LA1777, PI129157, B6013; *L. pimpinellifolium* LA121 Hisute, LA1478, LA1582; *L. cheesmani* LA1401, *L. peruvianum* PI126953, CMV Sel INRA y *L. chilense* LA 1969. Esta última colección tiene el mayor nivel de resistencia a TYLCV así como al geminivirus que existe en Florida. La investigación de la herencia de la resistencia de estos progenitores es contradictoria. Los descubrimientos algunas veces indican que existe una resistencia dominante monogénica mientras que en otros casos con el mismo material sugieren que la resistencia es poligénica. Los proyectos de cruzamientos mas adelantados se basan en las siguientes cuatro especies:

L. pimpinellifolium es probablemente la base para diversos híbridos F₁ en prueba en el Oriente Medio.

L. cheesmani. Es la base para la línea LC-44 que se distribuye en Egipto.

L. hirsutum. Es la base para las líneas que se prueban en la India.

L. peruvianum. Es la base para varios híbridos F₁ incluyendo TY20 distribuido en el Oriente Medio y de la línea LC53 que se distribuye en Egipto.

Finalmente se comprobó que cuatro colectas de *L. hirsutum* (PI 390658, PI 390659, LA 386 y LA1777) y dos de *L. peruvianum* (PI 127830, PI 127831) fueron resistentes a la infección de TYLCV. Estas accesiones no producen ningún síntoma de chino en el campo o después de la inoculación con *B. tabaci* (Muniyappa *et al*, 1991).

2.5.2. *Lycopersicon peruvianum*

Esta especie es la más variable dentro del género, tiene muchas razas definidas. Se encuentra ampliamente distribuida en Perú y se extiende al norte de Chile. Es estrictamente autoincompatible. El complejo *peruvianum* consiste solamente de dos especies *L. chilense* y *L. peruvianum*, las cuales fueron aisladas de *L. esculentum* por presentar severas barreras de hibridación interespecífica. Ambas especies son de fruto verde (Taylor, 1986). Una raza tiene los frutos más grandes de la especie (tres centímetros de diámetro). Otras razas tienen los tallos delgados, enrollados, con entrenudos cortos, las hojas son reducidas en tamaño y complejidad y las inflorescencias no son ramificadas, y no bifurcadas como en el resto del complejo *peruvianum*. Otro grupo está representado por *L. peruvianum* var. *humifusum* y fue separada de las formas típicas por tener pelos no glandulares cortos y densos, tallos rastreros y sus hojas pequeñas y simples, con dos pares de folíolos laterales grandes, un folíolo terminal y casi total ausencia de folíolos pequeños. Las flores son simples, no ramificadas con brácteas relativamente pequeñas (Taylor, 1986).

El mismo autor señala que en cruzas relacionadas entre la variedad *humifusum* y el resto de *L. peruvianum* forma típica se notó que el desarrollo del embrión fue retardado y las semillas fueron pequeñas y a menudo no viable. La barrera fue mucho más severa en la crusa recíproca, dando origen a semillas planas sin capacidad de germinación. En cambio *L. chilense* se hibridizó fácilmente con la var. *humifusum*. Tipos intermedios de razas son capaces de hibridizarse con las variedades tipo y "humifusum" y éstas podrían actuar como un puente para el intercambio de genes. Por otro lado la var. *humifusum* se hibridiza fácilmente con la raza Maraón ya que tienen un parecido morfológico.

Por su amplia distribución, su adaptación a los ambientes extremos y su remarcada variabilidad de *L. peruvianum*, representa una enorme provisión de genes potencialmente valioso para la reproducción de plantas (Taylor, (1986). El mismo autor reporta a la especie *L. peruvianum* resistente a las siguientes enfermedades: tizón temprano (*Alternaria solani*), marchitez por *Fusarium*, mancha de la hoja por *Septoria lycopersici*, marchitez bacterial *Pseudomonas solanacearum*, virus del mosaico del tabaco, virus de la marchitez manchada y virus del enrollamiento apical, nematodos noduladores de la raíz (*Meloidogyne*) y mas recientemente al TYLCV.

Taylor (1986) señala que existe una barrera de hibridación severa interespecífica entre *L. peruvianum* y el tomate cultivado por la temprana aborción del embrión, en cambio, la crusa de *L. esculentum* x *L. chilense* es fácil de obtener. Sin embargo, se han obtenido híbridos de la crusa de estas especies desde 1939, usando la var. de tomate Michigan State Forcing, como progenitor femenino, y el producto fueron frutos pequeños rojo-anaranjados. Otros híbridos se han obtenido por cultivo de embriones de *L. peruvianum* (PI 126946) y la variedad comercial Pearson en 1950. En 1983 se encontró que la raza Maraón de *L. peruvianum* en cruzas con *L. esculentum* dió una pequeña pero segura proporción de semillas viables. Con las colecciones LA 2122 y LA 1708 se produjo semilla de híbridos interespecíficos para cinco frutos usando pistilos polinizados de *L. esculentum*. Tigchelaar (1986); Tomás y Pratt (1981) señalan que la aborción del embrión puede ocurrir en cruzas de *L. esculentum* por *L.*

peruvianum, pero ésta barrera se puede superar por el uso de cultivo de embriones.

Según Taylor (1986) existen muchos más ejemplos de transferencia de genes de *L. peruvianum* al cultivo del tomate, también Rendón (1986) reporta que *L. peruvianum* PI 129157 es resistente a raíz corchosa (*Pyrenochyta lycopersici*) y PI 1128650 es resistente a mosaico del tabaco y al TYLCV, siendo este un carácter dominante. Dafalla (1993) señala que en Europa se han encontrado las colectas de *L. peruvianum* PI 126 953, CM Sel INRA, PI 127830 y PI127831 como resistentes a TYLCV

2.5.3. *Lycopersicon esculentum*

Por su valor como cultivo, esta especie ha sido ampliamente distribuida por todo el mundo. Según Taylor (1986) esta especie pertenece al complejo "*esculentum*" el cual está formado por seis especies de *Lycopersicon*, tres de las cuales tienen frutos coloreados *L. esculentum*, *L. pimpinellifolium* y *L. cheesmani* y tres tienen frutos verdes *L. parviflorum*, *L. chmielewskii* y *L. hirsutum*. Todos los representantes de *L. esculentum* son compatibles asimismo y es exclusivamente cultivada.

La especie *L. esculentum* es muy susceptible a enfermedades bacterianas, fungosas y en especial a enfermedades virosas, aspecto que ahora es de nuestro interés.

La enfermedad denominada "chino del tomate" en varias partes de México (Sinaloa, Tamaulipas, Morelos, Yucatán, etc.) es actualmente la de mayor importancia porque ha causado severos daños a la producción de tomate y chile.

En el estado de Morelos se inició desde 1989 por el INIFAP de Zacatepec, Mor. un programa de mejoramiento genético para incorporar resistencia al "chino del tomate" a variedades comerciales (Palacios, comunicación personal).

Díaz (1983) evaluó primeramente 123 variedades comerciales de tomate, 45 de uso industrial y 110 materiales provenientes del Banco Mundial de Germoplasma, para detectar fuentes de resistencia al "chino del tomate". Todas las variedades comerciales fueron suscep-

tibles y solo Walter, Tropic, Holanda 2, Red Cherry, Ace Castle y Early Grant mostraron cierta tolerancia. De los materiales provenientes del Banco de Germoplasma se detectaron 13 como posibles fuentes de resistencia y las de uso industrial detectadas como resistentes fueron Pacesetter 490 y Merit. En 1984 se evaluaron 314 materiales mas. De estos trabajos se concluyó que los mejores materiales detectados como resistentes fueron nueve: 170, 172, 428, 687, 1 038, 1 079, 1 688, 2 094 y 2 105; y que resultaron ser los mejores, las colectas 2 094 (*Lycopersicon esculentum* Mill) originario de Puebla, México y 687 (*Lycopersicon peruvianum*) originario de Perú. La colecta 2 094 es una especie semicultivada que presenta frutos pequeños ovoides de aproximadamente 2 centímetros de diámetro y gran cantidad de semillas.

García (1990) también evaluó 449 líneas provenientes del Banco de Germoplasma del Campo Experimental de Zacatepec, Mor., 404 líneas provenientes del Banco Mundial de Germoplasma y cinco variedades comerciales, también se incluyeron las colectas 2 094 y 687. El autor concluye que al utilizar una escala de 0 = planta sana, 1 = daños leves, 2 = daños moderados y 3 = daños severos para evaluar estos materiales, todas fueron completamente destruidas por el "chino" a excepción de la colecta 2 094 que manifestó un alto nivel de resistencia y la 687 que tuvo daño moderado, por lo tanto la colecta 2 094 por ser compatible con el tomate cultivado se puede utilizar como fuente de resistencia al virus.

Los resultados de estos trabajos confirman que el mecanismo de resistencia es al virus y no al vector, ya que éste estuvo presente en todas las colectas probadas.

Palacios (1989) confirma la resistencia de la colecta 2 094 e indica que en el ciclo P-V de 1989 se hizo el cruzamiento de Floradade x 2 094. En la generación F₁ se encontró que todas las plantas resultaron susceptibles. En la F₂ de un total de 132 plantas, 101 presentaron síntomas de "chino" y hubo 31 plantas sanas (proporción de 76.5% enfermas y 23.5% sanas). De acuerdo a estos resultados este autor postula una herencia de tipo mendeliano simple, siendo la resistencia recesiva y la segregación en la F₂ de 3:1.

2.5.4. *Lycopersicon esculentum* var. cerasiforme

El tomate cherry o tomatillo es probablemente el ancestro de los tomates cultivados y produce frutos coloreados. Esta especie crece espontáneamente en las áreas tropicales y subtropicales del mundo, principalmente en áreas nativas de regiones tropicales de Perú y Ecuador donde existe la mayor variabilidad. Presenta amplio rango ecológico en condiciones lluviosas y zonas de crecimiento de maleza nuevas. También tiene un amplio rango de autopolinización. Es tolerante a condiciones húmedas, resistente a marchitamiento, pudrición de raíz y manchado de hojas por hongos (Taylor, 1986; Rendón, 1986).

Es usado para consumo humano en varias regiones de México. Las variedades modernas están cercanamente relacionadas con la especie silvestre *L. esculentum* var. cerasiforme y los dos grupos pueden ser libremente entrecruzados (Taylor, 1986).

Rendón (1986) señala que *L. esculentum* var. cerasiforme PI 272 636 tiene carácter multigénico de resistencia para Antracnosis (*Colletotrichum cocciodes*). Mota (1991) menciona tolerancia de *L. esculentum* var. cerasiforme al virus mosaico del tabaco individual o mezclado con virus mosaico del pepino, virus mancha anular del tabaco y virus Y de la papa.

2.5.5. Otras especies de *Lycopersicon*

2.5.5.1. *Lycopersicon pimpinellifolium* es una especie de frutos coloreados y es típica de elevaciones bajas en Perú, desde la costa hasta aproximadamente a 1 000 msnm. Se distribuye en la Costa, Centro y Norte de Perú y Ecuador en campos de cultivos enmalezados, partes secas y áreas deslavadas, está estrechamente correlacionada con *L. esculentum*. (Taylor, 1986) reporta que las cruas interespecíficas con *L. esculentum* y *L. pimpinellifolium* se hacen fácilmente sin ningún obstáculo para el intercambio de genes. Ambos son *Eulycopersicon* y también son compatibles con el subgénero *Eriopersicon* pero en algunos casos funcionan solo cuando se usa polen masculino (Tigchelaar, 1986; Tomas y Pratt, 1981). Laterrot (1992) reporta a las colecciones LA 121, Hirsute P.C., LA1478, LA1582 como resistentes a TYLCV. Esta especie es la base para diversos híbridos F1 probados en el Medio Oriente.

Dembele (1993) reporta que algunos tipos silvestres de *L. peruvianum* y algunas colectas de *L. pimpinellifolium* fueron resistentes a TYLCV. *L. pimpinellifolium* introdujo genes de resistencia a TYLCV en Ve, F y Sm, obteniéndose dos cultivares Lygnon C-8-6 y C-20-5 actualmente de interés económico. Lignon C-8-6 ha destacado en Cuba por ser tolerante al calor, humedad y presenta resistencia parcial a geminivirus, sin embargo, el chino del tomate en México es diferente al geminivirus cubano, comprobado porque, con la inoculación del primero se producen manchas amarillas en hojas de *Datura stramonium* similar al TYLCV y por su capacidad a infectar chile.

Rendón (1986) también menciona la resistencia de esta especie por un gen dominante a moho de la hoja (*Cladosporium fulvum*).

2.5.5.2. *Lycopersicon chilense* esta especie es tan variable morfológicamente que *L. peruvianum* y su crecimiento está mas restringida geográficamente. Se localiza al sur de Perú y mas al norte de Chile. Es completamente autoincompatible y prefiere ambientes muy secos.

Rendón (1986) reporta que *L. chilense* CVF4 es resistente por muchos genes dominantes a virus del enchinamiento y al TYLCV. También Czonek (1992) indica que en Israel encontró que muchas accesiones de *L. chilense* no mostraron síntomas a TYLCV; 15 plantas F₁ (10 verdaderas y 5 rescatadas de embriones) se obtuvieron a partir de las siguientes accesiones LA 1932, LA 1938, LA 1959, LA 1960, LA 1961, LA 1963, LA 1968 y LA 2779. En la accesión LA 1960 basados en datos de F₂ indican control mediante dos o tres genes recesivos, porque no hubo resistencia completa.

2.5.5.3. *Lycopersicon cheesmani* es una especie endémica del archipiélago y Galápagos, con altísima autogamia, tolerante a sales, uniforme y con diferencias entre poblaciones. La subespecie minor prefiere bajas elevaciones y se extiende dentro de la zona del litoral salino (Taylor, 1986). Laterrot (1992) reporta a *L. cheesmani* LA 1401 como una especie parcialmente resistente a TYLCV. Esta especie es la base para las 44 líneas LC distribuidas en Egipto.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Colecta de material enfermo

En el estado de Yucatán, en los municipios de Oxkutzcab, Dzidzantún, Muna, Temozón, Mérida, Tetiz, Ixil, Conkal y Motul (cuadro 2), se colectaron plantas, hojas y partes de plantas de tomate, chile (habanero, xcatic, dulce, chahua-ic, max, jalapeño y serrano) y maleza que presentaban síntomas severos de una enfermedad viral. Algunas plantas de los cultivos de chile habanero, xcatic y tomate, se mantuvieron vivas en el invernadero del Departamento de Parasitología Agrícola de la UACH, otra parte del material se conservó en refrigeración, y una tercera se utilizó fresca después de colectarla. Los municipios se seleccionaron con base en un estudio elaborado por el Centro Regional de Yucatán de la UACH, donde se determinaron las principales áreas hortícolas del Estado.

3.2. Serología. Método de ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)

El ensayo de inmuno absorción enzimática (ELISA) se realizó en los laboratorios FITO-INIA y Virología de los Departamentos de Fitotecnia y Parasitología de la UACH respectivamente. La ELISA según Teliz y Mora (1986) para la detección de virus, es un método muy preciso, muy sensible, usa cantidades mínimas de antisuero y la reacción es rápida. Los siguientes pasos se desarrollaron con base en la metodología desarrollada por Téliz y Mora, (1986).

1) A cada pozo de la placa de plástico, se le agregó 100 μ l de gama globulina purificada en Solam de cubrimiento. Se incubó a 37°C por cuatro horas y/o toda la noche en el refrigerador a 6°C. Se lavó la placa con PBST o solución amortiguadora de fosfatos con surfactante Tween usando una piceta. Se esperó tres minutos para vaciar y sacudir fuertemente sobre una toalla de papel en una mesa. Se repitió el lavado tres veces.

2) Se maceró la planta por probar en una dilución de 1:10 (P/V) peso sobre volumen, en Solam de extracción. Se agregó 100 μ l de savia de cada planta prueba a pozos duplicados. Se incubó a 6°C toda la noche y/o a 37°C por cuatro horas. Se lavó la placa tres veces como en el paso anterior.

Cuadro 2. Relación de materiales enfermos colectados en Yucatán.

ESPECIE Y VARIEDAD	PROCEDENCIA	CONDICIÓN DEL MATERIAL
Chile chahua-ic (<i>C. annuum</i>)	Temozón, Yuc.	Congelado y fresco
Chile habanero (<i>C. frutescens</i>)	Oxkutzcab, Yuc.	Congelado y fresco
Chile habanero (<i>C. frutescens</i>)	Dzidzantún, Yuc.	Fresco
Chile habanero (<i>C. frutescens</i>)	Muna, Yuc.	Fresco
Chile habanero (<i>C. frutescens</i>)	Ixil, Yuc.	Congelado
Chile dulce (<i>C. annuum</i>)	Oxkutzcab, Yuc.	Congelado y fresco
Chile dulce (<i>C. annuum</i>)	Dzidzantún, Yuc.	Congelado
Chile dulce (<i>C. annuum</i>)	Sacapuc, Motul, Yuc.	Congelado
Chile dulce (<i>C. annuum</i>)	Mérida, Yuc.	Fresco
Chile max, (<i>C. annuum</i>)	Oxkutzcab, Yuc.	Congelado
Chile max (<i>C. annuum</i>)	Dzidzantún, Yuc.	Fresco
Chile max (<i>C. annuum</i>)	Temozón-Mérida, Yuc.	Congelado
Chile xcatic (<i>C. annuum</i>)	Oxkutzcab, Yuc.	Fresco
Chile xcatic (<i>C. annuum</i>)	Oxkutzcab, Yuc.	Congelado
Chile serrano (<i>C. annuum</i>)	Oxkutzcab, Yuc.	Congelado
Chile parado (<i>C. annuum</i>)	Conkal, Yuc.	Congelado
Chile jalapeño (<i>C. annuum</i>)	Muna, Yuc.	Congelado
Chile verde (<i>C. annuum</i>)	Muna, Yuc.	Fresco
Tomate socato (<i>L. esculentum</i>)	Temozón, Yuc.	Congelado
Tomate socato (<i>L. esculentum</i>)	Oxkutzcab, Yuc.,	Congelado
Tomate Peto 81 (<i>L. esculentum</i>)	Oxkutzcab, Yuc.	Congelado y fresco
Tomate Peto 81 (<i>L. esculentum</i>)	Conkal, Yuc.	Congelado
Tomate Peto 81 (<i>L. esculentum</i>)	Tetiz, Yuc.	Congelado
Tomate Peto 82, (<i>L. esculentum</i>)	Oxkutzcab, Yuc.	Congelado
Tomate Peto Mex 82 (<i>L. esculentum</i>)	Muna, Yuc.	Congelado
Tomate saladés (<i>L. esculentum</i>)	Muna, Yuc.	Congelado
Tomate saladés (<i>L. esculentum</i>)	Dzidzantún, Yuc.	Congelado
Tomate cv. Pacsetter (<i>L. esculentum</i>)	Muna, Yuc.	Fresco
Tomate Río Grande (<i>L. esculentum</i>)	Sacapuc, Motul, Yuc.	Congelado
Tomate (<i>L. esculentum</i>)	Mérida, Yuc.	Congelado y fresco
Tomate (<i>L. esculentum</i>)	Ixil, Yuc.	Congelado
Tomate Uc (<i>L. esculentum</i>)	Dzidzantún, Yuc.	Congelado y fresco
Maleza chichibé (<i>Sida acuta</i>) Fam. Scrophulariaceae	Oxkutzcab, Yuc.	Congelado
Maleza chichibé (<i>Sida acuta</i>) Fam. Scrophulariaceae	Dzidzantún, Yuc.	Congelado
Maleza claudiosa (<i>Capraria biflora</i>) Fam. Malvaceae	Dzidzantún, Yuc.	Congelado

3) Se agregó 100 ul del conjugado gama globulina-enzima a cada pozo. Se utilizó una dilución del conjugado concentrado de 1:100 y 1:500 en Solam de conjugado. Se incubó a 30°C por tres horas. Se lavó tres veces la placa como en los pasos anteriores.

4) Se agregó 100 ul de substrato fresco a cada pozo (1.0 mg/ml de p-nitrofenil fosfato en Solam de substrato). Se incubó a temperatura de laboratorio 30 minutos hasta que se observó el color amarillo en algunos pozos y en los testigos positivos. Se paró la reacción agregando 50 ul de NaOH 3M a cada pozo y se evaluaron los resultados por observación visual y medición de absorbancia a 405 nm en el espectofotómetro del laboratorio FITO-INIA, del C.P. y del CIMMYT.

Los antisueros utilizados se obtuvieron del laboratorio de FITO-INIA del Departamento de Fitotecnia, de la American Type Culture Collection (ATTC) y de AGDIA y fueron los siguientes:

- a) Virus del mosaico del tabaco (FITO-INIA).
- b) Virus del jaspeado del tabaco (Tobacco Etch virus) (TEV) PVAS-69 Antiserum.
- c) Virus de la marchitez manchada del tomate (Tomato Spotted Wilt Virus) (TSWV) PVAS-412 Antiserum (ATCC)
- d) Virus del enrollamiento de la papa (Potato Leaf Roll Virus) (PLRV) F-300 (AGDIA)
- e) Virus del mosaico atenuado del chile (Pepper Mild Mottle Virus) (PMMV) F-375 (AGDIA)
- f) Virus Y de la papa (FITO-INIA)
- g) Virus X de la papa (FITO-INIA)
- h) Virus de la mancha anular del tabaco (FITO-INIA)

Los antisueros proporcionados por la empresa AGDIA constan de un equipo con placa sensibilizada con el virus, sustancias amortiguadoras o Buffers, conjugado y substrato para realizar la prueba de ELISA.

3.3. Plantas diferenciales o indicadoras de virus

En el invernadero del Departamento de Parasitología Agrícola se establecieron 18 especies de plantas indicadoras diferentes (cuadro 3), primero se hizo el almácigo y después se trasplantaron individualmente en vasos de poliuretano de un litro de capacidad. El suelo utilizado fue previamente fumigado con bromuro de metilo.

La inoculación se llevó a cabo a las dos semanas después del transplante.

Cuadro 3. Relación de plantas diferenciales utilizadas

1. <i>Chenopodium amaranticolor</i>	10. <i>N. rústica</i>
2. <i>Ch. quinoa</i>	11. Chile habanero (<i>Capsicum frutescens</i>)
3. <i>Physalis floridiana</i>	12. <i>Petunia hybrida</i>
4. <i>Nicotiana tabacum</i> cv. Debney	13. Frijol pinto 188
5. <i>N. tabacum</i> cv. Hicks.	14. Pepino Poinsett
6. <i>N. tabacum</i> cv. White Burley	15. Chicharo de vaca (<i>Vigna unguiculata</i>)
7. <i>N. tabacum</i> cv. Xanthi	16. Soya (<i>Glicine max</i>)
8. <i>N. clevelandi</i>	17. <i>Lycopersicon esculentum</i> cv. ACE
9. <i>N. glutinosa</i>	18. Mastuerzo (<i>Tropaeolum majus</i>)

3.4. Inoculación mecánica

Con tejido de plantas virosas congelado y fresco, se preparó el inóculo. Se molieron tres gramos de tejido en 10 ml de solución amortiguadora de fósforos 0.1 M, pH = 7.0 y 0.01 M, pH = 7.2. En dos muestras frescas para tratar de detectar el virus de la marchitez manchada del tomate, se usó una solución amortiguadora de 0.025 M de Fosforos + Dietil ditiocarbamato de sodio (DIETCA) pH = 7.2. Con un hisopo de algodón humedecido en el extracto se frotaron de dos a tres hojas de cada planta, previamente espolvoreada con carborundum de 600 mallas.

Con la prueba de plantas diferenciales o indicadoras se utilizaron 18 especies diferentes (cuadro 3). En el primer ensayo se probaron 28 muestras de material enfermo congelado; en el segundo 18, 15 congeladas y 3 frescas y en el tercero 9 de material fresco (cuadro 2).

3.5. Injertos

Esta prueba se realizó en el invernadero y se utilizaron plantas de chile dulce y jalapeño de tres meses de edad, en las cuales se injertaron púas enfermas de chile habanero y tomate de la variedad Pacesetter. En la segunda prueba se usaron plantas de chile habanero de dos meses de edad, sobre las cuales se injertaron púas enfermas de chile dulce, chile xcatic y tomate de la variedad Peto 81.

3.6. Inclusiones virales.

Se utilizaron plantas de chile habanero, tomate var. Pacesetter, *Nicotiana tabacum* cv. Hicks, *N. tabacum* cv. White Burley, *N. rustica* infectadas con los virus problemas.

Estas pruebas se realizaron en el laboratorio de Histopatología del Instituto de Fitosanidad del C.P. ubicado en Montecillos, Méx. Y se usaron las siguientes técnicas:

La epidermis se obtuvo de dos formas: 1) El tejido se raspó con una lija fina de agua con mucho cuidado, hasta dejar solamente la epidérmis del envés de la hoja, la cual se cortó con una navaja, 2) Con una pinza de punta muy fina (de relojero) se desprendieron por el envés las tiras de epidermis y se tiñeron en distintos colorantes (Cárdenas, 1986).

a) Las tiras de epidermis se pusieron por 15 minutos en ocho gotas de Azure A y dos de amortiguador de fósforos y se lavaron en alcohol al 95%.

b) Las tiras de epidermis se dejaron en unas gotas de colorante Azul de bromofenol-mercurio por 15 minutos y se lavaron con agua de la llave. Este colorante se preparó con 10 g de $HgCl_2$, 100 mg de azul de bromofenol, 100 ml de agua destilada.

c) Las tiras de epidermis se pusieron en unas gotas del colorante Rodamina o Pironina B-Verde de metilo y se enjuagaron con agua de la llave. El colorante se preparó con: 0.15 g

de verde de metilo, 0.25 g de Pironina B, 100 ml de Buffer de acetato de sodio, pH 4.7 (1.65 g acetato de sodio + 10 ml de HCl en 1 000 ml de agua destilada.

Esta solución se diluyó en 1:10 V/V. Floxina 1 g en 100 ml de agua destilada.

d) Las tiras de epidérmis del tejido enfermo se pusieron por 15 minutos en el colorante Rosa de Bengala 0.05 en 100 ml de agua destilada; y se lavaron con agua destilada.

Después de lavar las tiras de epidermis se montaron en un portaobjetos con glicerina, se les colocó un cubreobjetos y se observó en el microscopio compuesto con el objetivo de 100X.

3.7. Microscopio electrónico

Las pruebas de microscopio electrónico se realizaron también en el laboratorio de Histopatología del Instituto de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados en Montecillos, México.

3.7.1. Tinción negativa

Para la preparación del material, se utilizaron ácido fosfotúngstico 1% pH 6.9 y acetato de uranilo 2%. El procedimiento fue el siguiente: se colocaron dos gotas de ácido fosfotúngstico o dos gotas de acetato de uranilo en portaobjetos diferentes; en las gotas de las sustancias anteriores se maceraron con una navaja, pedazos pequeños de tejido enfermo para extraerle la savia. En esta solución se sumergieron por un instante rejillas de cobre de 250 y 200 mallas, recubiertas con una membrana de Formvar y se colocaron en una tira de papel filtro dentro de una caja de petri para eliminar el exceso del líquido y se taparon. Estas preparaciones posteriormente se observaron en el microscopio electrónico marca Zeiss modelo ME-9. Con esta técnica, se prepararon las siguientes muestras: *N. tabacum* cv. White Burley inoculada con tomate de Ixil; *N. tabacum* cv. White Burley inoculada con tomate Peto 81 de Tetiz; *N. tabacum* cv. Hicks inoculadas con tomate Peto 81 de Dzidzantún; tomate cv. ACE, *N. rustica*, *N. tabacum* cvs. White Burley y Hicks inoculados con tomate Peto 82 de Oxkutzcab; tomate cv. Pacesetter de Muna; chile jalapeño de Oxkutzcab y plantas de chile jalapeño, pimiento y habanero injertados con chile habanero de Oxkutzcab y tomate cv.

Pacesetter de Muna.

3.7.2. Técnica de inmunomicroscopía. (Decorado)

Se utilizaron las siguientes muestras frescas: chile dulce y tomate Peto 81 de Oxkutzcab; chile habanero y chile verde de Muna; tomate Uc de Dzidzantún y chile chahua-ic de Temozón, Yucatán.

Los *Antisueros* utilizados fueron virus jaspeado del tabaco y virus de la marchitez manchada del tomate y se siguió la técnica mencionada por Daphene (1984):

1). Las rejillas de cobre recubiertas con la membrana de Formvar se colocaron en el antisuero, a la concentración 1/500 (40 ul de antisuero en 20 ml de Buffer) dejándolas en éste 30 minutos.

2). Después se lavaron con 10 gotas de Buffer,

3). Se pusieron en las gotas del antígeno (0.1 g de tejido enfermo/1 ml de Buffer) 30 minutos,

4). Se lavaron con 10 gotas de Buffer, posteriormente con agua destilada y

5). Se tiñeron con ácido fosfotúngstico 1.5%.

3.7.3. Ultracortes

Se utilizaron las siguientes muestras de material fresco: tomate Peto 81 y chile dulce de Oxkutzcab, Yuc.; chile habanero y chile verde de Muna; tomate Uc de Dzidzantún y chile chahua-ic de Temozón, Yucactán.

Para la preparación de cortes ultradelgados se realizó el siguiente procedimiento (Velázquez, 1989):

1). Pequeños pedazos de hojas y de tejido apical del material enfermo se pusieron en frasquitos con fijador de Karnovsky compuesto por gluteraldehído 2% mas paraformaldehído

3% en amortiguador de cacodilato de sodio 0.05 M, pH 7.0.

2). Los pedazos de tejido enfermo se sacaron del fijador de Karnovsky y se lavaron tres veces con el amortiguador de cacodilato de sodio, cambiándolo cada 15 minutos.

3). Posteriormente se fijó en tetraóxido de osmio (OSO_4) al 1% durante dos horas y se lavó con el mismo amortiguador tres veces como en el paso anterior.

4). En seguida se realizó una pretinción con acetato de uranilo acuoso al 0.5% a 44°C durante toda la noche.

5). Al día siguiente se deshidrató pasando el material en alcohol etílico al 30, 50, 70, 80, 96 y 100%, cambiándolo cada 20 minutos, con el alcohol puro se efectuaron tres cambios.

6). Posteriormente cada sección de tejido se transfirió a una cápsula de gelatina con resina Spurr, después de la polimerización de la resina se realizaron los cortes ultradelgados con una navaja de diamante en el ultramicrotomo.

7). Los cortes se depositaron en rejillas de cobre y se les dio una doble tinción con acetato de uranilo al 4% y citrato de plomo. En la cámara donde se realizó la tinción se depositó hidróxido de sodio (NaOH) para evitar la formación de precipitados de los contrastes con el dióxido de carbono (CO_2) de la atmósfera.

8). Las preparaciones se observaron en el microscopio electrónico.

3.8. Evaluación de colecciones de *Lycopersicon* spp

El experimento se llevó a cabo en la Unidad Agrícola Yaaxhom del municipio de Oxkutzcab, Yucatán, en suelos denominados regionalmente Yaax-hom o luvisoles en la clasificación FAO/UNESCO. El 10 de diciembre de 1993 se estableció el semillero en charolas germinadoras; el transplante se realizó el 6 de enero de 1994 a campo abierto. Se utilizó el diseño experimental completamente al azar con 15 tratamientos y cinco repeticiones. De los

materiales que conformaron los tratamientos, las colectas 2 094, 4, 25, 23 y 34 fueron proporcionados por el INIFAP de Zacatepec, Morelos, provenientes del Banco Mundial de Germoplasma y las variedades V.J. Chapingo, UACH-88 y Haylip XL-56 fueron donados por el Departamento de Fitotecnia de la UACH. Se consideró como testigo el tomate variedad Río Grande (cuadro 4). El área experimental fue de 798 m², utilizándose como parcela experimental surcos de 6 m de largo, 1.20 m entre surcos y 1 m de separación entre repeticiones. Se sembró con las mismas variedades 3 m de bordo por cada lado. Por cada repetición se sembraron 20 plantas (1 planta cada 30 cm) y se contó con un total de 100 plantas por tratamiento. La preparación del terreno consistió en barbecho profundo y surcado, se hizo con maquinaria y se niveló manualmente para facilitar el riego. Se utilizó riego rodado, aplicándose uno cada semana y se fertilizó una sola vez con triple 17 a razón de 20 g/planta. Se realizaron tres deshierbes manuales. Para el control de plagas y enfermedades (excepto la mosquita blanca) se hicieron tres aplicaciones, una con Bravo 720 y Decis para prevenir enfermedades y controlar minador de la hoja respectivamente y dos con Ridomil Bravo para controlar tizones. Cabe hacer la aclaración que cerca del experimento, se encontraban cultivos de chile y tomate en plena producción, con desarrollo de enfermedades virosas y presencia de mosquita blanca. La evaluación del experimento se realizó el 10 de febrero de 1994 y se consideró la siguiente escala:

- 1 = Planta sana. Se debe tomó en cuenta el desarrollo normal y hojas verdes.
- 2 = Plantas con daños leves. Crecimiento medio, mosaico y clorosis atenuados.
- 3 = Plantas con daños moderados. Crecimiento bajo, mosaico y clorosis bien definidos.
- 4 = Plantas con daños severos. Plantas achaparradas, enchinamiento severo y clorosis marcada.

Cuadro 4. Descripción de los tratamientos en la prueba de tolerancia a cultivares de *Lycopersicon* spp.

NÚMERO	TRATAMIENTO	NOMBRE CIENTÍFICO
1	Colecta No. 2 094	<i>Lycopersicon esculentum</i>
2	Colecta No. 4	<i>Lycopersicon peruvianum</i>
3	Colecta No. 25	<i>Lycopersicon hirsutum</i>
4	Colecta No. 22	<i>Lycopersicon hirsutum</i>
5	Colecta No. 23	<i>Lycopersicon hirsutum</i>
6	Colecta No. 34	<i>Lycopersicon hirsutum</i>
7	Río Grande (Testigo)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
8	Peto 81	<i>Lycopersicon esculentum</i>
9	El Rey	<i>Lycopersicon esculentum</i>
10	V.J. Chapingo (tomate cherry)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
11	UACH-88 (Población variable)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
12	Haylip XL-56 (F ₃)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
13	Nema 1 400	<i>Lycopersicon esculentum</i>
14	Nema 1 401	<i>Lycopersicon esculentum</i>
15	Macizo criollo	<i>Lycopersicon esculentum</i>

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Detección de virus por el método de ELISA

De los ocho antisueros probados con muestras de chile, tomate y maleza procedentes del estado de Yucatán, con siete se tuvieron reacciones positivas (cuadro 5). Los virus mosaico del tabaco (TMV), mancha anular del tabaco (TRSV), enrollamiento de la hoja de papa (PLRV) y marchitez manchada del tomate (TSWV) se encontraron en un mayor número de muestras y de localidades. La prueba para el virus Y de la papa (PVY) resultó negativa en todas las muestras, tal vez por problemas con la secuencia de la técnica.

Con el antisuero virus del mosaico del tabaco, se probaron 27 muestras que estaban congeladas y se encontró que seis fueron positivas, cuatro en cultivos de tomate de los municipios de Temozón, Muna, Ixil y Mérida y dos en maleza claudiosa (*Capraria biflora*) y chichibé (*Sida acuta*) colectadas en Dzidzantún. Lo anterior sugiere que el TMV se encuentra más localizado hacia la parte centro-norte y oriente del Estado.

Con el virus de la mancha anular del tabaco se probaron 27 muestras (congeladas) y solamente ocho resultaron positivas. El TRSV se detectó en cultivos de tomate y chiles (chahua-ic, habanero y max), de los municipios de Temozón, Oxkutzcab, Ixil y Mérida. Este virus se encuentra distribuido en el centro, sur y oriente del Estado.

Los virus, TMV y TRSV se detectaron en las mismas muestras de los municipios de Temozón, Ixil y Mérida.

El virus X de la papa (PVX), se probó con 27 muestras que estaban congeladas y sólo se detectó en la muestra de tomate de la localidad de Ixil. La misma muestra contenía TMV y TRSV.

El virus del enrollamiento de la papa se examinó con 27 muestras (congeladas) y 15 resultaron positivas. Se detectó en cultivos de chiles (chahua-ic, max, habanero y dulce), tomates (Uc, Salades, Río Grande y Peto 81) y maleza chichibé procedentes de las localidades

Cuadro 5. Pruebas positivas obtenidas con el método de ELISA.

ANTISUERO	CULTIVO MUESTRA	PROCEDENCIA
Virus del mosaico del tabaco	Tomate socato Tomate Peto Mex. 82 Tomate Tomate Maleza claudiosa Maleza chichibé	Temozón, Yuc. Muna, Yuc Ixil, Yuc. Mérida, Yuc.. Dzidzantún, Yuc Dzidzantún, Yuc.
Virus de la mancha anular del tabaco	Tomate socato Tomate Tomate salades Tomate Chile chahua-ic Chile habanero Chile max	Temozón, Yuc. Ixil, Yuc. Oxkutzcab, Yuc. Mérida, Yuc. Temozón Oxkutzcab, Yuc. Mérida, Yuc.
Virus X de la papa	Tomate	Ixil, Yuc.
Virus del enrollamiento de la papa	Chile chahua-ic Chile max Chile habanero Chile habanero Chile dulce Chile dulce Tomate salades Tomate Uc Tomate Río Grande Tomate salades Tomate salades Tomate Peto 81 Maleza chichibé	Temozón, Yuc. Oxkutzcab, Yuc Oxkutzcab, Yuc. Ixil, Yuc.. Dzidzantún, Yuc. Oxkutzcab, Yuc. Muna, Yuc. Dzidzantún, Yuc. Sacapuc-Motul, Yuc. Muna, Yuc. Dzidzantún, Yuc. Tetiz, Yuc. Dzidzantún, Yuc.
Virus de la marchitez manchada del tomate	Tomate socato Tomate salades Tomate Tomate Tomate Peto 81 Tomate Uc Chile chahua-ic Maleza chichibé Chile jalapeño	Temozón, Yuc. Temozón, Yuc. Dzidzantún, Yuc. Dzidzantún, Yuc. Ixil, Yuc. Mérida, Yuc. Oxkutzcab, Yuc. Dzidzantún, Yuc. Muna, Yuc.
Virus del jaspeado del tabaco	Tomate socato Chile verde Maleza chichibé	Temozón, Yuc. Muna, Yuc. Dzidzantún, Yuc.
Virus del mosaico atenuado del chile	Chile dulce Tomate	Mérida, Yuc. Ixil, Yuc.

de Temozón, Oxkutzcab, Ixil, Dzidzantún, Muna, Motul y Tetiz, por lo tanto se distribuye en todo el Estado. Este virus no se encontró asociado con los anteriores, excepto en la maleza chichibé de Dzidzantún que también presentó TMV.

Con el virus de la marchitez manchada del tomate se examinaron 18 muestras, 11 frescas y siete congeladas y resultaron nueve positivas. Este virus se encontró en tomate y chile chahua-ic de Temozón, tomate salades, tomate Uc y maleza chichibé de Dzidzantún, tomate Peto 81 de Oxkutzcab, tomate de Ixil y Mérida y chile jalapeño de Muna. En dos muestras de tomate (Temozón y Mérida), el TSWV se encontró asociado con TMV y TRSV. En las muestras de chile chahua-ic de Temozón y tomate de Ixil, se encontró el TSWV asociado con TRSV y la maleza chichibé contenía también TMV, TEV y PLRV.

Con el virus del jaspeado del tabaco (TEV) se probaron 18 muestras, 11 frescas y siete congeladas. Este virus se localizó en tres de ellas: tomate, chile verde y maleza chichibé procedente de Temozón, Muna y Dzidzantún respectivamente. La muestra de tomate de Temozón también resultó positiva para los virus TSWV, TRSV y TMV.

Por último el virus del mosaico atenuado del chile (PMMV) se probó con 26 muestras, 11 frescas y 15 congeladas; se detectó en una muestra de chile dulce y otra de tomate de Mérida e Ixil respectivamente. Este virus se localiza solamente en el centro del Estado. En la muestra de tomate también se encontraron los virus TSWV, TRSV y TMV.

Es conveniente señalar que la congelación del material enfermo es un factor que inhibe a los virus más inestables como el TSWV, TEV y PLRV. Sin embargo, existen otros virus como el TMV, TRSV, PVX y PMMV que son mas estables y su longevidad *in vitro* puede durar desde meses hasta un año con temperaturas bajas. Para solucionar este problema, se utilizó en las pruebas con virus mas inestables material fresco para que los resultados fueran más exactos, a pesar de esto los resultados positivos fueron muy pocos.

La maleza chichibé procedente de Dzidzantún y el tomate socato de Temozón presentaron asociaciones de virus TMV y TEV. Watterson, (1986) reporta que es común encontrar asociaciones de estos virus.

La muestra de tomate de Ixil presentó asociaciones de virus TMV con PMMV; Green y Wu (1991) reportan que en Taiwán, China lo encontraron en el cultivo de chile con asociaciones del virus mosaico del tomate (ToMV) y TMV. Lo anterior también es posible porque los tres virus pertenecen al grupo Tobamovirus.

Los síntomas de la Fig. 1A se relacionan con los síntomas señalados para el TMV por Jones *et al*, (1991) en cuanto a mosaico amarillo, enanismo, enrollamiento de hojas y reducción del número de frutos. También hay coincidencia con los síntomas descritos para el TEV por Watterson (1986), en cuanto al achaparramiento de plantas y mosaicos cuando se infectan en edad temprana. Francki y Hatta (1981) y Alonso *et al* (1990) señalan que los virus TSWV y PMMV presentan achaparramientos, malformación y reducción en el número de frutos como en este caso.

Otra evidencia de la presencia del virus TMV, es la localización de plantas enfermas en el semillero, aún cuando éste se encuentra completamente cubierto con Agribón o tela de organdí que no dejan pasar a vectores. Jones *et al* (1991); Watterson (1986) y Francki y Hatta (1981) señalan que los virus TMV y TSWV se transmiten por semilla, y que se pueden encontrar en el mucílago de la testa de la semilla.

Muchas malezas son reservorios de virus entre ellos el TMV, TSWV, TEV, PVX y TRSV. En Yucatán las maleza claudiosa y chichibé son de las mas abundantes y se encuentran presentes durante todo el año. La prueba de ELISA indica que son fuente de inóculo para cultivos de tomate y chile, los virus TMV, PLRV, TSWV y TEV. De la misma manera el chile max que se encuentra en forma silvestre o semicultivado en los solares durante todo el año, también es reservorio de virus como el TRSV y el PLRV, según las pruebas realizadas.

4.2. Detección de virus por medio de plantas indicadoras

Los resultados positivos de esta prueba se presentan en el cuadro 6, de donde se desprenden las siguientes observaciones:

Nicotiana tabacum cv. White Burley presentó mosaico con las muestras de tomate Peto 81 y tomate procedentes de Oxkutzcab, Tetiz e Ixil respectivamente y el chile dulce de Oxkutzcab mostró mosaico y jaspeado (Fig. 1B). Francki y Hatta (1981), señala que esta planta produce mosaico cuando está presente el virus TSWV, Jones *et al* (1991) mencionan que cuando ésta planta se inocula mecánicamente con el PVX produce mosaico.

La planta de *N. tabacum* cv. Hicks presentó mosaico con las muestras de tomate Peto Mex 82 de Muna y tomate Peto 82 de Oxkutzcab (Fig. 1C); con la muestra de chile dulce de Oxkutzcab se presentó mosaico y jaspeado. Según Jones *et al* (1991) ésta planta con mosaico indica la presencia del virus PVX.

Cuadro 6. Resultados de las pruebas realizadas con plantas diferenciales

PLANTA DIFERENCIAL	CULTIVO MUESTRA	PROCEDENCIA	SÍNTOMAS
<i>Nicotiana tabacum</i> cv. White Burley	Tomate Peto 81	Oxkutzcab, Yuc.	Mosaico
	Tomate Peto 81	Tetiz, Yuc.	Mosaico
	Tomate	Ixil, Yuc.	Mosaico
	Chile dulce	Oxkutzcab, Yuc.	Mosaico y jaspeado
<i>Nicotiana tabacum</i> cv. Hicks	Tomate Peto Mex 81	Muna, Yuc.	Mosaico
	Tomate Peto 82	Oxkutzcab, Yuc.	Mosaico
	Chile dulce	Oxkutzcab, Yuc.	Mosaico y jaspeado
<i>Nicotiana tabacum</i> cv. Xanthi	Chile dulce	Oxkutzcab, Yuc.	Mosaico y jaspeado
Chile habanero (<i>Capsicum frutescens</i>)	Chile dulce	Oxkutzcab, Yuc.	Necrosis sistémica
	Chile habanero	Muna, Yuc.	Necrosis sistémica

Nicotiana tabacum cv. Xanthi presentó mosaico y jaspeado con la muestra de chile dulce procedente de Oxkutzcab. Esta planta puede indicar la presencia de virus como TMV, TEV y PVX según Cárdenas (1986) y Jones *et al* (1991).

Por último el chile habanero (*Capsicum frutescens*) presentó necrosis sistémica con las muestras de chile dulce y habanero de Oxkutzcab y Muna. Cárdenas (1986) indica que en *C. annum* con el virus TMV produce infección sistémica, asimismo, con el virus TEV (Pinto comunicación personal).

Al inocular otro juego de diferenciales con el tabaco cv. Hicks infectado con la muestra de tomate Peto 82 de Oxkutzcab (cuadro 7) se presentaron otros síntomas. Cárdenas (1986), Jones *et al* (1991), Francki y Hatta (1981) y Green y Wu (1991) señalan que *N. rustica* con PVX produce mosaico; *N. glutinosa* con el TMV y PMMV forma lesiones locales; *N. tabacum* cv. Xanthi y *Datura stramonium* con los virus TMV y TRSV se producen lesiones locales; *N. tabacum* cv. White Burley con los virus TSWV y PVX inducen mosaico; *Ch. amaranticolor* y *Ch. quinoa* con los virus TRSV, TEV y TMV se forman lesiones locales y por último *L. esculentum* con el TMV y el TEV produce mosaico. Como podemos observar, los síntomas presentes en la mayoría de las plantas indicadoras, corresponden al virus TMV.

Cuadro 7. Respuesta obtenida al inocular plantas diferenciales con hojas de tabaco cv. Hicks enfermas, procede de la muestra de tomate Peto 82-Oxkutzcab, Yuc., 1993.

PLANTA DIFERENCIAL	SÍNTOMAS
<i>Nicotiana rustica</i>	Mosaico
<i>Nicotiana glutinosa</i>	Lesiones locales
<i>Nicotiana tabacum</i> cv. Xanthi	Lesiones locales
<i>Nicotiana tabacum</i> cv. White Burley	Mosaico
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	Lesiones locales
<i>Chenopodium quinoa</i>	Lesiones locales
<i>Datura stramonium</i>	Lesiones locales
Tomate cv. ACE (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill)	Mosaico y embolsamiento

En el cuadro 6 se observa que en las diferentes muestras, los principales síntomas fueron mosaico o infección sistémica y posteriormente en el cuadro 7, muchas de las plantas presentaron lesiones locales, esto se pudo deber a la multiplicación de los virus, como ejemplo tenemos lo señalado por Green y Wu (1991) respecto al virus PMMV, cuando se inocula primero en *N. glutinosa* presentan lesiones locales, de éstas se transfiere a *N. tabacum* cv. Samsun para su multiplicación y al inocular nuevas plantas indicadoras se producen lesiones locales. Esto se explica además porque la planta de chile contiene un inhibidor y para la formación de lesiones locales es necesario primero contar con cierta cantidad de virus.

Con respecto a la prueba de plantas diferenciales, la mayoría de las muestras que presentaron síntomas procedieron de Oxkutzcab y las características predominantes corresponden al virus TMV, aunque también indican la presencia de los virus PVX, TSWV y TEV en los municipios de Muna, Oxkutzcab, Tetiz e Ixil, Yucatán.

4.3. Transmisión por injerto

En todos los casos se logró transmitir por injerto los virus de las plantas muestras. Plantas de chile jalapeño, pimiento y habanero injertadas con chile habanero de Oxkutzcab y tomate cv. Pacesetter de Muna presentaron después de un mes los síntomas de virosis: primeramente aclaramiento de nervadura, después mosaico amarillo y posteriormente enrollamiento de hojas (Fig. 1D). Estos síntomas fueron semejantes a los que se presentan en el campo y también a los reportados por Díaz (1991).

4.4. Virus detectados con inclusiones virales

En el cuadro 8 se especifican los resultados encontrados con la técnica de inclusiones virales. Con los colorantes azure A y azul de bromofenol-mercurio, no se detectó ningún tipo de inclusión, pero si cuando se usó Rosa de Bengala y Rodamina.



Fig. 1. A, Síntomas de virosis severa en una planta de tomate var. Río Grande. Oxxutzcab, Yuc. 1994. B, Jaspeado desarrollado en *N. tabacum* cv. White-Burley inoculada con muestras de chile dulce de Oxxutzcab, Yuc. C, Mosaico en hojas de *N. tabacum* cv. Hicks, inoculada con la muestra de tomate Peto 82, Oxxutzcab, Yuc. D., Planta de chile pimiento inoculada por injerto de chile habanero de Oxxutzcab, Yuc. 1993.

Cuadro 8. Inclusiones virales observadas al microscopio compuesto.

COLORANTE	MUESTRA PROCEDENTE	PLANTAS INOCULADAS	TIPO DE INCLUSION
Rosa de Bengala y Rodamina	Chile dulce Oxkutzcab, Yuc.	<i>N. tabacum</i> cvs. White Burley, Xanti y Hicks	Granulosa y cristales dentro del núcleo
Rosa de Bengala	Tomate Peto 82 Oxkutzcab, Yuc.	<i>N. tabacum</i> cvs. White Burley y Hicks	Vacuolada y microcristales
Rosa de Bengala y Rodamina	Tomate Ixil, Yuc.	<i>N. tabacum</i> cv. White Burley	Vacuolada y doble vacuolada
Rosa de Bengala	Chile habanero Oxkutzcab, Yuc.	.	Microcristales
Rosa de Bengala	Tomate cv. Pacesetter Muna, Yuc.		Microcristales

En las muestras frescas de Yucatán, en ningún caso se encontraron inclusiones virales, excepto en la muestra de chile habanero de Oxkutzcab que crecía en el invernadero donde hubo microcristales. Las inclusiones se observaron en plantas indicadoras después que se inocularon con las muestras frescas o que estaban congeladas.

Con tejido fresco de chile dulce de Oxkutzcab se inoculó *N. tabacum* cv. White Burley, Hicks y Xanthi y en preparaciones de epidermis de estas plantas y coloreadas con rosa de bengala y rodamina, se encontraron inclusiones granulosas y cristales dentro del núcleo (Fig. 2A), también inclusiones vacuoladas o cuerpos X (Fig. 2B). Estas inclusiones según Cárdenas (1986) se inducen por los virus TEV y TMV.

Con *N. tabacum* cvs. White Burley y Hicks y tomate ACE inoculadas con tejido congelado de tomate Peto 82 de Oxkutzcab se encontró, en las preparaciones de epidermis coloreadas con rosa de bengala, inclusiones vacuoladas y microcristales, las primeras corresponden al TMV y los microcristales encontrados en muestras de chile habanero y tomate Peto 82 de Oxkutzcab (Fig. 2C), y tomate cv. Pacesetter de Muna, se parecen a los encontrados por Christie y Edwardson (1977) correspondientes al virus macha anular del tabaco.

En *N. tabacum* cv. White Burley, inoculadas con la muestra de tomate (congelado) procedente de Ixil, se encontraron inclusiones vacuoladas. Esta inclusión según Cárdenas (1986) corresponde al virus TMV.

Es importante señalar que hay correspondencia entre estos resultados y los obtenidos con plantas indicadoras donde también se encontraron los virus TMV, TEV y TRSV.

De un total, de 10 muestras frescas, solamente en una se encontró inclusiones pero después de ser inoculada a tres plantas diferenciales. Esto se pudo deber a: que los virus detectados no se encontraban en las otras muestras, no todos los virus se transmiten mecánicamente, o es necesario multiplicarlos en otras plantas indicadoras. También pudo existir un inhibidor como lo señalan Green y Wu (1991). En el caso del TSWV que es muy inestable y requiere de sustancias amortiguadoras específicas, en esta prueba se utilizó el DIETCA pero no dió ningún resultado.

4.5. Virus encontrados en el microscopio electrónico

4.5.1. Inmunomicroscopía (Decorado)

Con esta técnica se trabajaron seis materiales, de los cuales, en la muestra de chile habanero de Muna se observaron en el microscopio electrónico partículas de varilla flexible que corresponden al virus del jaspeado del tabaco (Fig. 2D).

4.5.2. Tinción negativa

De 12 muestras preparadas con esta técnica, en *N. tabacum* cv. Hicks inoculada con tomate Peto 82 procedente de Oxkutzcab y utilizando el contraste ácido fosfotúngstico, se observaron partículas de varilla rígida y otras de forma poliédricas (Fig. 3A y B). La primera partícula corresponde de acuerdo con la descripción de Jones *et al* (1991) y Cárdenas (comunicación personal) al virus TMV y la segunda al TRSV según concordancia con las otras pruebas.

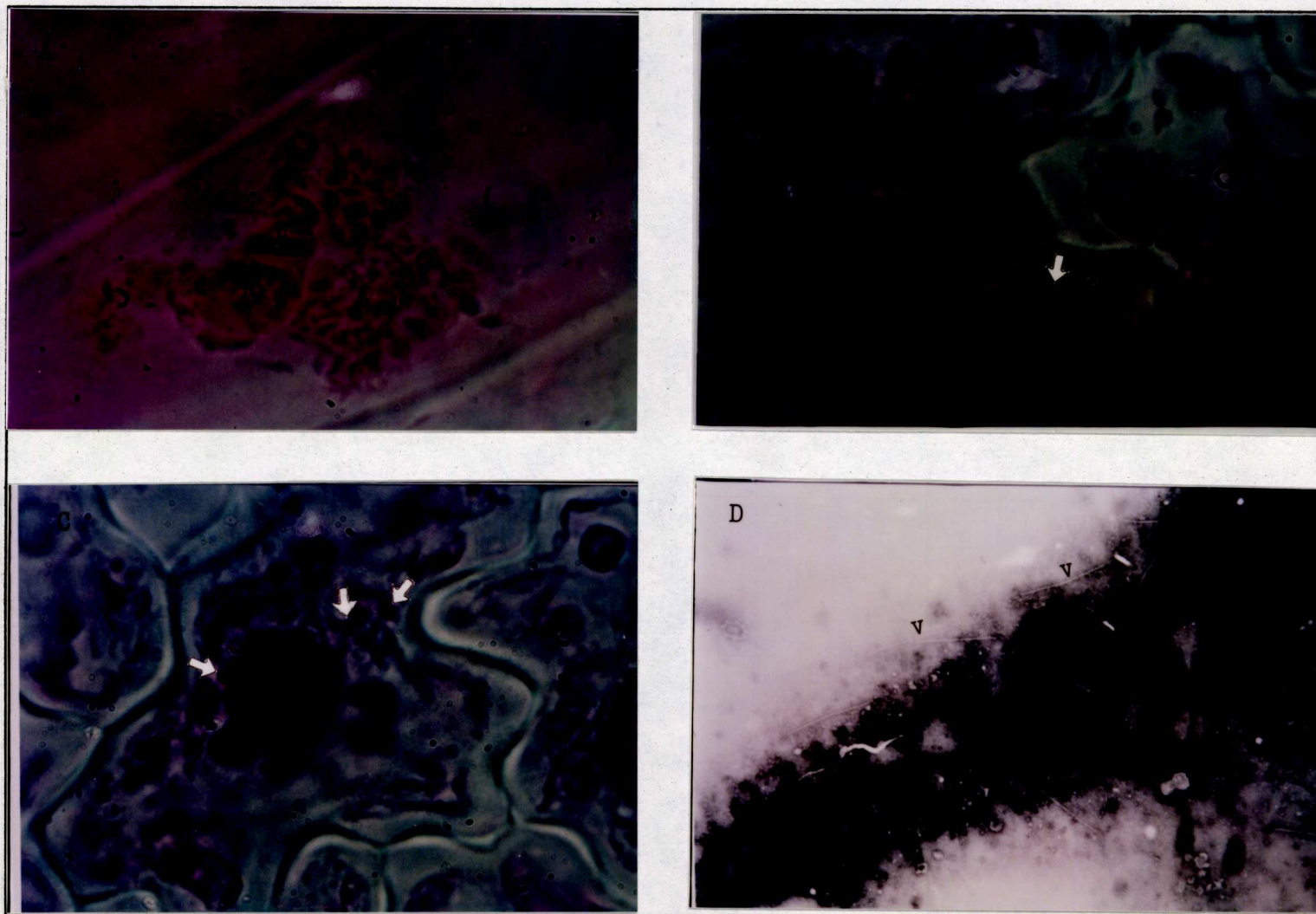


Fig. 2. A. Inclusión granulosa (lg) y cristalinas (c) dentro del núcleo (N), (TEV) en *N. tabacum* cv. White Burley. Muestra de chile dulce, Oxxutzcab, Yuc. B. Inclusión vacuolada (TMV) en *N. tabacum* cv. Hicks. Muestra. de chile dulce, Oxxutzcab, Yuc C. Microcristales (TRSV) en *N. tabacum* cv. White Burley. Muestra de tomate Peto 82, Oxxutzcab, Yuc. D. Virus de varilla flexible (TEV) observadas al microscopio electrónico en chile habanero de Muna, Yuc. 1993.

4.5.3. Ultracortes

Con la técnica de ultracortes se trabajaron siete materiales y solo resultaron positivos tres de ellos: en la muestra de chile dulce de Oskutzcab y chile max de Dzidzantún se observaron partículas que no se pudieron determinar por no tener otras evidencias y en la muestra de chile habanero de Muna, se observaron inclusiones citoplasmáticas formadas por partículas poliédricas de virus (Fig. 3C) e inclusiones amorfas no densas con partículas y material citoplasmático (Fig. 3D), que según Murant (1981) y Jones *et al* (1991) corresponden al TRSV.

4.5.4. Resultados y sus relaciones entre las técnicas de detección de virus

En el cuadro 9 se observan los resultados obtenidos con las técnicas de ELISA, plantas diferenciales, inclusiones virales y microscopio electrónico. Las relaciones encontradas se describen a continuación:

En la muestra de tomate Peto 81 de Oskutzcab con ELISA se encontró el virus de la marchitez manchada del tomate. La planta diferencial de *N. tabacum* cv. White Burley presentó mosaico y en las pruebas de microscopio electrónico no se observó nada. La única relación encontrada es la que mencionan Francki y Hatta (1981), Jones *et al* (1991), y Stace (1970) donde el tabaco cv. White Burley con mosaico indica la presencia del virus TSWV, aunque también existe PVX.

La muestra de chile habanero procedente de Muna resultó negativa con ELISA, pero en la planta diferencial de chile habanero presentó necrosis sistémica; en esta misma muestra, con inmunomicroscopía se observaron partículas de varilla flexible que corresponden al TEV según Jones (1991). Con ultracortes se encontraron inclusiones citoplasmáticas formadas por partículas de virus e inclusiones amorfas no densas que corresponden al TRSV. Por lo anterior en esta muestra se encuentran asociados los virus TEV y TRSV.

El tomate Peto 82 de Oskutzcab, en las plantas de *N. glutinosa*, *N. tabacum* cv. Xanthi, *D. stramonium*, *Ch. amaranticolor* y *Ch. quinoa* presentó lesiones locales características del TMV

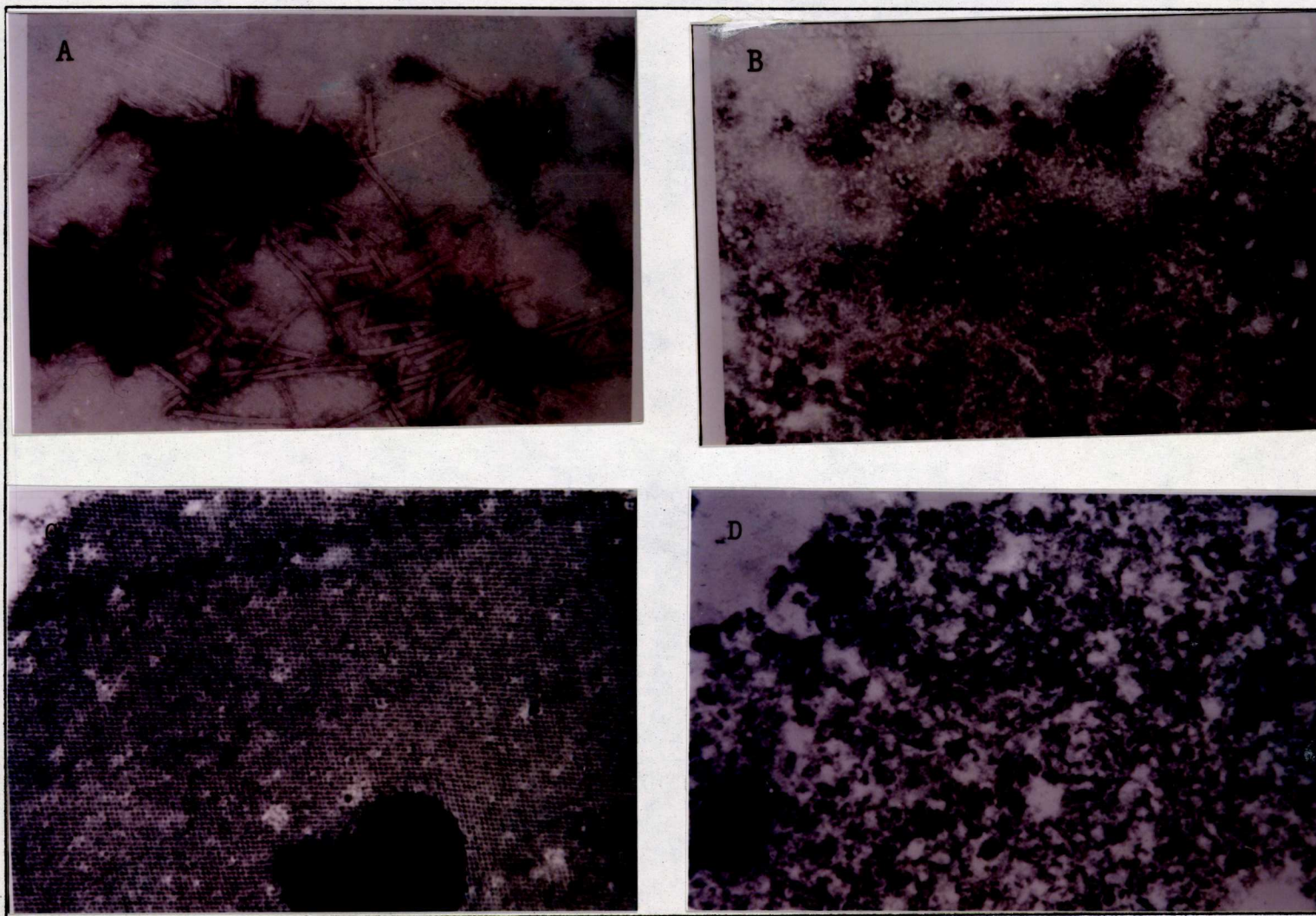


Fig. 3. A y B. Partículas de varilla y poliédricas observadas en el microscopio electrónico con tinción negativa, en las muestras de tomate Peto 82 y chile habanero de Oxxutzcab, Yuc., respectivamente. C y D. Inclusión citoplasmática formada por partículas de virus (v) e inclusión amorfa (a) no densa con partículas y material citoplasmático (TRSV), observadas en el microscopio electrónico con ultracortes en la muestra de chile habanero de Oxxutzcab, Yuc. 1993.

Cuadro 9. Resultados obtenidos en las diferentes técnicas que se realizaron para la detección de virus en chile y tomate de Yucatán, México. 1993.

MUESTRA	ELISA	PLANTAS DIFERENCIALES		INCLUSIONES VIRALES	TINCIÓN NEGATIVA	INMUNOMI- CROSCOPIA (DECORADO)	ULTRACORTES
Tomate Peto 81 Oxkutzcab, Yuc.	TSWV	<i>N. tabacum</i> cv. White Burley	Mosaico				
Chile habanero Muna, Yuc.		Chile habanero	Necrosis sistémica			Partículas de vari- lla flexible	Inclusión citoplas- mática formada por partículas de virus e inclusión amorfa no densa con partículas y material citoplasmática
Tomate Peto 82 Oxkutzcab, Yuc.		<i>N. tabacum</i> cv. Hicks <i>N. rustica</i> <i>N. glutinosa</i> <i>N. tabacum</i> cv. Xanthi <i>D. stranoium</i> <i>N. tabacum</i> cv. White Burley <i>Ch. amaranticolor</i> <i>Ch. quinoa</i> <i>L. esculentum</i>	Mosaico Mosaico Lesiones locales Lesiones locales Lesiones locales Mosaico Lesiones locales Lesiones locales Mosaico	Inclusiones vacuoladas y microcristales	Varilla rígida y partículas poliédricas		
Chile habanero Oxkutzcab, Yuc.	TRSV PLRV			Microcristales	Partículas poliédricas		
Chile dulce Oxkutzcab, Yuc.	PLRV			Inclusiones vacuoladas (cuerpos X). Inclusiones granulosas con cristales dentro del núcleo			
Tomate Ixil, Yuc.	TMV TRSV			Inclusiones vacuoladas			

y corresponden con las inclusiones vacuoladas y las varillas rígidas observadas con el microscopio electrónico. También se observaron microcristales y partículas poliédricas posiblemente del TRSV.

En la muestra de chile habanero de Oxtutzcab se detectó con ELISA los virus TRSV y PLRV, con la técnica de inclusiones se encontraron microcristales y con tinción negativa se observaron partículas poliédricas. Las partículas poliédricas podrían corresponder al virus TRSV y al PLRV para lo cual habría que haber hecho mediciones, pero con ELISA e inclusiones virales se confirma la presencia del TRSV

En la muestra de chile dulce de Oxtutzcab con ELISA se detectó el PRLV, pero con inclusiones estuvieron las inducidas por los virus TMV y TEV.

Por último en la muestra de tomate de Ixil, con ELISA se detectaron los virus TMV y TRSV y las inclusiones vacuoladas se relacionan únicamente con el TMV..

Resumiendo se puede señalar que en las únicas muestras donde se encontraron relaciones fueron tomate Peto 81, tomate Peto 82, chile habanero y chile dulce de Oxtutzcab, chile habanero de Muna y tomate de Ixil; además se comprobó con más de dos técnicas la presencia de los virus TSWV, TEV, TRSV y TMV.

4.6. Evaluación de materiales resistentes de *Lycopersicon* spp

Los datos originales resultan estar en forma de conteo de plantas sanas y enfermas por lo que éstos no siguen una distribución estrictamente normal, Reyes (1980) aconseja en este caso realizar transformaciones que permitan obtener este tipo de distribución antes de realizar el análisis correspondiente. En este trabajo la transformación que se efectuó fue $\sqrt{n+1}$, o sea sumar una unidad a las observaciones y posteriormente tomar el valor de su raíz cuadrada para realizar el análisis estadístico.

En el análisis estadístico para los niveles de infección a virosis, se observó que hubo diferencias altamente significativas con $\alpha \leq 0.01$ en todas las variables del cuadro 10.

Cuadro 10. Análisis de varianza y significancia para los niveles de infección a virosis en plantas de *Lycopersicon* sp. evaluados en Oxkutzcab, Yuc.

VARIABLE	G.L.	C.M.	Fc.	F _{t0.01}	SIGNIFICANCIA	$\bar{X}$	% C.V.
Plantas sanas	14	6.61	19.65	2.394	**	10.04	18.78
Plantas con daños leves	14	3.70	31.08	2.394	**	4.42	16.06
Plantas con daños moderados	14	2.35	18.79	2.394	**	3.106	18.7
Plantas con daños severos	14	1.74	8.29	2.394	**	2.21	27.79

** Significancia con $\alpha = 0.01$

* Análisis de varianza realizado con los datos originales transformados a $\sqrt{n+1}$, a excepción de la media, la cual se indica con datos originales.

El coeficiente de variación resultó ser bajo por lo que se considera que los resultados son confiables.

Sumando la media de plantas sanas, con la de plantas dañadas levemente por ser éstas últimas todavía útiles comercial y experimentalmente, tenemos una media de 14.46 plantas, lo que representa el 72.3% (20 plantas representan el 100%) de plantas resistentes contra el 27.7% con daños moderados y severos.

En el cuadro 11 se muestran las pruebas de comparación de medias, donde los tratamientos: colecta 2 094 (*Lycopersicon esculentum*), colecta 25, 22, 23 y 34 (*Lycopersicon hirsutum*), presentaron el mayor promedio de plantas sanas y por ende el menor promedio de plantas con daños leves, moderados y severos.

Las colectas 2 094, 22 y 23 presentaron el 100% de resistencia. La colecta cuatro de *Lycopersicon peruvianum* presentó también buen porcentaje de plantas sanas.

El tratamiento testigo, tomate Río Grande, presentó el mayor porcentaje de daños severos y moderados y en consecuencia el menor en cuanto a plantas sanas. Los tratamientos: tomate Río Grande, Peto 81, El Rey, Nema 1 400 y macizo criollo regional fueron los que

presentaron el mayor promedio de plantas dañadas severamente. Esto se relaciona con lo reportado por Díaz (1983) en el sentido de que todas las variedades comerciales resultaron ser susceptibles al "chino del tomate" en el estado de Morelos. De los materiales comerciales solamente el tomate Nema 1 401 se comportó como intermedio en cuanto a resistencia a virosis, al igual que los materiales semimejorados de V.J. Chapingo, Haylip XL-56 y UACH-88. Sería conveniente continuar con el mejoramiento de estos últimos materiales, pero ahora seleccionando el carácter de resistencia a virosis.

El material Nema 1 401 ya ha sido reportado como tolerante a virosis por Soria *et al* (1992)

Cuadro 11. Prueba de comparación de medias (Tukey) con $\alpha = 0.01$ para los niveles de infección a virosis en los tratamientos evaluados en Oxkutzcab, Yuc.

TRATAMIENTO	NIVELES DE INFECCIÓN			
	PLANTAS SANAS	PLANTAS CON DAÑOS LEVES	PLANTAS CON DAÑOS MODERADOS	PLANTAS CON DAÑOS SEVEROS
Colecta No. 2 094	20.0 a	0.0 c	0.0 c	0.0 d
Colecta No. 4	11.1 ab	3.5 b	2.9 ab	0.6 cd
Colecta No. 25	18.8 a	0.2 c	0.2 c	0.0 d
Colecta No. 22	20.0 a	0.0 c	0.0 c	0.0 d
Colecta No. 23	20.4 a	0.0 c	0.0 c	0.0 d
Colecta No. 34	19.4 a	0.0 c	0.2 c	0.0 d
Tomate Río Grande	2.4 c	5.5 abc	6.2 a	5.7 a
Tomate Peto 81	2.5 c	5.9 ab	4.9 a	4.3 abc
Tomate El Rey	3.0 c	5.7 ab	5.6 a	4.4 ab
V. J. Chapingo (Tomate Cherry)	5.8 bc	6.9 ab	5.1 a	0.9 bcd
UACH-88 (Población variable de tomate)	5.1 bc	7.1 ab	3.4 ab	2.1 abcd
Tomate Halylip XL-56 (F3)	7.1 bc	7.7 a	1.5 bc	1.7 abcd
Tomate Nema 1400	3.3 c	7.5 a	4.2 ab	4.1 abc
Tomate Nema 1401	4.9 bc	5.6 ab	6.0 a	2.8 abcd
Tomate macizo criollo regional	2.7 c	9.1 a	5.0 a	3.9 abc

y en esta ocasión se comportó de igual manera.

Los materiales silvestres de *L. peruvianum* y *L. hirsutum* han sido reportados por Taylor

(1986), Dafalla (1992), Muniyappa *et al* (1991) y Rendón (1986), como tolerantes y resistentes a enfermedades fungosas y principalmente a virus como el TMV y últimamente a geminivirus que provocan el TYLCV.

Por las características botánicas de la especie *L. hirsutum*, según Taylor (1986) ésta puede presentar además de inmunidad, resistencia a la infección de virus y resistencia a vectores de acuerdo con los tipos definidos por Russell (1978).

Aún cuando las variedades de *L. esculentum* var. cerasiforme, resultó ser resistente a cuatro tipos de virus (TMV, CMV, TRSV y PVY) según Mota (1991), en el campo desarrollan síntomas virales cuando las plantas entran en la etapa de fructificación, esto se relaciona con lo que señala Russell (1978) respecto a la resistencia a la traslocación del virus donde dice que la dispersión sistémica del PLRV y PVY es baja en plantas de papas viejas que en jóvenes. Por esta razón es decisión del investigador si se incluye esta especie en un programa de mejoramiento genético para el estado de Yucatán.

La colecta 2 094 fue reportada por Palacios (1989) y Díaz (1983) por primera vez en el estado de Morelos como altamente resistente al "chino del tomate", debido a esta característica y porque no presenta ningún obstáculo de cruzamiento, se decidió utilizarla como progenitor masculino para incorporar los genes de resistencia a variedades comerciales como Floradade. En el estado de Yucatán resultó también con el 100% de resistencia a virosis y a la enfermedad que Díaz (1993) denomina como "chino del tomate". García (1990) señala que el mecanismo de resistencia de la colecta 2 094 es al virus y no al vector porque se observó que los vectores se alimentan de las plantas y no presentan ningún tipo de síntoma, por lo tanto esto se puede relacionar con lo que Russell (1978) denomina inmunidad, ya que este tipo de resistencia se presenta en parientes silvestres del tomate.

Es conveniente darle continuidad a este trabajo hacia el mejoramiento genético o con otro experimento donde se avale la variedad comercial mejorada, hacia resistencia a virosis, producción y calidad del producto.

V. CONCLUSIONES

1. Con el método de ELISA se detectaron siete tipos diferentes de virus: virus del mosaico del tabaco (TMV), virus de la mancha anular del tabaco (TRSV), virus X de la papa (PVX), virus del jaspeado del tabaco (TEV), virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV), virus del enrollamiento de la hoja de la papa (PLRV) y virus del mosaico atenuado del chile (PMMV). En algunas muestras estos virus se encontraron solos y en otras en asociaciones.

2. Los virus TMV y TEV se localizaron en 6 y 7 muestras respectivamente de cinco localidades. El PRLV se encontró en 13 muestras de 7 localidades, solo y asociado en la maleza chichibé (*Sida acuda*) con TMV y TSWV.

3. El virus TSWV se encontró en 9 muestras de 6 localidades, solo y asociado con TMV y TEV.

4. El PVX se detectó solo en una muestra de tomate que también contenía TMV y TRSV. El PMMV se detectó en dos muestras solo y asociado con TSWV, TRSV y TMV.

5. De acuerdo con la bibliografía consultada, se reportan para Yucatán los virus TMV, TEV y la enfermedad denominada "chino del tomate". En este trabajo se detectaron con ELISA cinco nuevos virus, uno de ellos el PMMV todavía no se ha reportado para México.

6. Las plantas indicadoras presentaron síntomas característicos de los virus TMV, TEV, PVX y TSWV.

7. Con inclusiones virales se detectó TEV, TMV y TRSV.

8. En el microscopio electrónico con tinción negativa se observaron partículas de varilla rígida y poliédricas que corresponden al TMV y TRSV. Con la técnica de inmunomicroscopía solo se logró obtener la reacción con el antisuero del TEV y se observaron partículas de varilla

flexible correspondiente a ese virus y con ultracortes posiblemente la presencia del TRSV.

9. Las malezas chichibé (*Sida acuta*) y caludiosa (*Capraria biflora*), así como el chile max silvestre, son reservorios de diferentes virus: TMV, TRSV, PLRV, TSWV y TEV. Esto sugiere la eliminación de hospederas silvestres con anterioridad a cultivos de chile y tomate.

10. Los materiales silvestres de *Lycopersicon* resultaron ser los mejores por su resistencia a virosis. Destacan por su alta resistencia los materiales 2 094 de *L. esculentum*, 22 y 23 de *L. hirsutum*. Se sugiere continuar la evaluación del material mejorado con la colecta 2 094 y los materiales 22, 23, 34, 25 de *L. hirsutum* y 4 de *L. peruvianum* pueden servir para futuros trabajos de mejoramiento.

11. Otros materiales que se pueden continuar mejorando hacia resistencia a virus son: UACH-88, V. J. Chapingo y Haylip XL-56.

VI. LITERATURA CITADA

- Agdia s/a. Pathoscreen kit, DAS-ELISA, Peroxidase Elkhart, In EUA. Instructivo 7 p.
- Agrios, N.G. 1988. Plant pathology. Academic Press Inc. Third Editon. New York pp. 661-662.
- Alonso, E; García, L. I; Avila, R.M.J; Wicke, B; Serra, M.T; Díaz, R.J.R. 1989. A tobamovirus causing heavy losses in protected pepper crops in Spain. *Journal of Phytopathology* (Germany) 125 (1) pp. 67-76.
- Avila, V. J. y Pozo, C. O. 1991. Manejo del vector: una estrategia para el control de virosis en el cultivo de chile. SARH-INIFAP. Folleto Técnico No. 6. Tampico, Tam. México. 20 p.
- Betti, L; Tanzi, M; Canova, A. 1991. Multiplication and translocation of the PepMV mild mutant M-1 in pepper (*Capsicum annuum* L.) *Phytopathologia-Mediterranea* 30:2, 137-139.
- Brown, J.K. and Nelson, M.R. 1988. Transmission, host range and virus-vector relationships of chilo del tomate virus, a white fly transmitted geminivirus from Sinaloa, México. *Plant. Disease* 72:836-869.
- Bucio, V. C.M. 1983. Comportamiento de susceptibilidad de diferentes genotipos de chile reportados como resistentes al hongo *Phytophthora capsici* Leonian. Tesis profesional. Univ. de Gto. Esc. de Agronomía y Zootecnia. Irapuato, Gto. México.
- Cárdenas, S. E. 1986. Diagnóstico de virus mediante inclusiones virales. C.P. Montecillos, México. 71 p.
- Cardona, C. H.A. 1985. Problemática de la producción de chile en el estado de Zacatecas y sus repercusiones en las indemnizaciones del sector agrícola por siniestros de plagas y enfermedades. Tesis profesional. UACH. Chapingo.

- Cartia, G; Pacetto, M; Polizzi, G. 1985. Effects caused by mild mottle virus on some pepper varietis. *Técnica Agrícola* 37:2, 151-161.
- Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). 1990. Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo de tomate. Turrialba, Costa Rica.
- _____. 1993. Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo de chile dulce. Turrialba, Costa Rica.
- CFOPR. 1983. Pest control in tropical tomatoes. Center for Overseas Pest Research (CFOPR) London. pp. 48-62.
- Christie, R. G. and J. R. Edwardson. 1977. Light and electron microscopy of plant virus inclusiones. Monograph series Florida Agricultura Experiment Station. p. 63.
- Czonek, H. 1992. Tomato mottle geminivirus (Faculty of Agriculture Israel). En: tomato leaf curl. Gasim A. Dafalla (Ed.) Newsletter Issue No. 2. July of 1992. Bulletin of TYLCV Working group EEC. France. 4 p.
- Dafalla, G.A. 1992. Tomato Leaf Curl. Newsletter Issue No. 1. January 1992. Bulletin of TYLCV. Working group EEC France. 4 p.
- _____. (Ed.) 1992. Tomato Leaf Curl Newsletter Issue No. 2. July 1992. Bulletin of TYLCV. Working group EEC. France. 4 p.
- _____. 1993. Tomato Leaf Curl. Newsletter Issue No. 3 July 1993. Bulletin of TYLCV. Working group EEC France. 4 p.
- Daphene, M.W. 1984. Botanical immunocytochemistry. Plant Virus Unit. Ministry of Agriculture Fisheries and Food Agricultural Development and Advisory Service. Cambridge. UK. p. 339.
- Delgado, S.S. 1974. Los virus que atacan al cultivo de chile en México; sus implicaciones, identificación, transmisión y medidas de combate. *Agricultura Técnica. México* 3:317-325.

- Dembele D. 1993. TYLCV in Mali. En: Tomato Leaf Curl. Newsletter. Issue No. 3 july 1993. Bulletin of TYLCV. Working gruop E,E,C. France. 4 p.
- Díaz, B. V. 1983. Búsqueda de fuentes de resistencia a "virus chino" en jitomate. Informe técnico s/p. Programa Fitopatología I en el Campo Experimental Zacatepec. SARH-INIFAP-CIFAP. Morelos, México.
- Díaz, P. R. 1993. Evaluación de la adopción de tecnología para el manejo de virosis en Yucatán. XX Congreso Nacional de Fitopatología. Memoria: Zacatecas, Zac. México. p. 76
- _____. 1991. Sintomatología e incidencia de virosis en tomate del Norte de Yucatán y efecto de diferentes tiempos de cobertura en su incidencia y severidad de la enfermedad y producción del tomate. Congreso Nacional de Fitopatología del 24 al 26 de julio de 1991. Memoria: Puebla, México. p. 148.
- _____ y Ramírez Ch., J.L. 1991. Bioecología y control integrado de la mosquita blanca *Bemisia tabaci* Genn (Homoptera: Aleyrodidae). SARH-INIFAP. Publicación especial No. 3. Mococho, Yuc. México. pp. 1-23.
- Fraile, A. and García A.F. 1990. A classification of the tobamoviruses based on comparisons among their 126 k proteins. Journal-of-general-virology 71:10, 2223-2228.
- Francki, R.I.B. and Hatta, T. 1981. Tomato spotted wilt virus. En: Handbook of plant virus infections. Comparative diagnosis. E. Kurstak (Ed.) Elsevier North. Holland. Biomedical Press. New York. pp. 491-512'
- French, G. J; Elder, M; Skelton, F. 1993. Recovering and identifying infections plant viruses in guttation fluid. Alexandria Va: the American Society for Horticultural Science, july 1993 V. 28 (7) Hortscience pp. 746-747.
- Fuentes, F. J. 1974. Revisión de las enfermedades causadas por virus y bacterias en cultivos hortícolas de México. Memoria del II Congreso Nacional de Parasitología Agrícola. Mazatlán, Sin. p. 84.

- Galindo, A. J. 1971. Virosis del chile serrano (*Capsicum annuum*) en el Noroeste de México. Memoria de la Sociedad Americana de Fitopatología. División Caribe.
- García, L. I; Serra, M.T; Alonso, E; Wicke, B; Ferrero, M.L; Díaz R, J.R. 1990. Characterization of a Spanish strain of pepper mild mottle virus (PMMV-S) and its relationship to other tobamoviruses. Journal of Phytopathology 129:1, pp. 1-8.
- García, M. O. 1990. Búsqueda y evaluación de fuentes de resistencia genética al virus chino del tomate en la región de Zacatepec, Morelos y uso de las inclusiones en el diagnóstico de virus-fitopatógenos. Tesis profesional. Universidad Autónoma del Edo. de Morelos. Cuernavaca, Mor. pp. 45-49.
- Garzón, T.J.A. 1982. Enfermedad de la planta atigrada del chile (*Capsicum annuum*) en la región de Valsequillo, Pue. Tesis de Maestría en Ciencias. CP. Chapingo, México.
- _____. 1987. Presencia de virus en los cultivos de chile (*Capsicum annuum* L.) y tomate (*Lycopersicon lycopersicon* K) en México. En temas de virología II. pp. 156-181.
- Gebre, S.K. and Marchoux, G. 1991. Identification and characterization of tobamoviruses strains infectin L-resistant genotypes of peppers in France. Journal-of-Phytopathology 131:4, 275-289.
- Green, S. K. and Wu, S.F. 1991. Tobamoviruses on *Capsicum annuum* in Taiwan. Plant Disease 75:11, 1186.
- Greenleaf, H.W. 1986. Pepper breeding. Mark J. Bassett (Ed). Vegetable crops Department University of Florida. Gainesville, Florida. pp. 69-123.
- Guevara, G.R.G; Ruiz, M. R. y Rivera, B.R.F. 1993. Localización del virus huasteco del chile en plantas de chile (*Capsicum annuum*). XX Congreso Nacional de Fitopatología. SMF-INIFAP-CONACYT y UAZ. Memoria. Zacatecas, Zac. México.

- Hollings, H. 1983. Virus diseases. Compiled by the Commonwealth, Mycological Institute. Plant pathologist's pocketbook. Second. edition. Kew Surrey y England. pp. 46-77.
- Ie, T.S. 1970. Tomato spotted wilt virus. Description of plant viruses. No. 39. CMI/AAB Kew Surrey, England.
- Jones, J.B; J.P. Jones; R.E. Stall and T.A. Zitter. 1991. Compendium of tomato diseases. APS PRESS. The American Phytopathological Society New York. USA. pp. 31-43.
- Laterrot, H. 1992. Resistance Genitors to Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV). En: Tomato Leaf Curl, Newsletter. Issue No. 1. January 1992. Bulletin of TYLCV. Working gruop EEC. France. 4 p.
- León,G.H.M. 1982. Enfermedades de cultivos en el estado de Sinaloa. Segunda Edición. SARH, INIA-CIAPA. pp. 145-146.
- McDonald. 1991. Diseases diagnosed on greenhouse vegetable crop in B.C. 1989 and 1990. B.C. Minist Agric. an Fish Canadá. Plant Dis. SURV. 71:1:59.
- Marte, M. and Wetter, C. 1986. Occurrence of pepper mild mottle virus in pepper cultivars from Italy and Spain. Zeitschriftfur-Pflanzenkrankheiten-und-Pflanzenschutz, 93:1, 37-43.
- Martínez, S.J.P. 1985. Factores causantes de la variación de síndromes virales en chile serrano y su importancia en el diagnóstico. Tesis de Maestría en Ciencias. CP. Chapingo, México.
- Martínez, J. L. 1989. Prevención y manejo de virosis en jitomate, el caso de Autlán, Jalisco. Una experiencia replicable. Memoria del XVI Congreso Nacional de Fitopatología. Montecillos, Méx. p. 155.
- Martínez, A. J; López, C.J. y Valdéz, C.S. 1986. Virosis del jitomate en Autlán, Jalisco. Memoria del XII Congreso Nacional de Fitopatología. Tuxtla Gutiérrez, Chis. México. p.53.

- Mota, S. J. 1991. Evaluación de resistencia de tomate silvestre (*Lycopersicon esculentum* var cerasiforme) a los virus Y de la papa, mosaico del tabaco, mancha anular del tabaco, mosaico del pepino y a la mezcla de ellos, bajo condiciones de invernadero. Tesis profesional UACH, Chapingo, México.
- Muniyappa, V; Swanson, M.M; Duncan, G.H. and Harrison, B.D. 1991. Particle purification, properties and epitope variability of Indian. *Annals of Applied Biology* 118:595-604. En: Tomato leaf curl. Newsletter Issue No. 2 July 1992. Bulletin of TYLCV. Working group. EEC. France. 4 p.
- Murant, A.F. 1981. Nepoviruses. En: Handbook of plant virus infections and comparative diagnosis. E. Kurstak (Ed.). Elsevier/Nort-Holland Biomedical Press. pp. 224-226.
- Palacios, A. A. 1989. Herencia de la resistencia al chino del jitomate. Segunda Reunión Científica Forestal y Agropecuaria. Centro de Investigaciones Forestales y Agropecuarias de Morelos 4 y 5 de diciembre de 1990. 50 Aniversario del Campo Experimental Zacatepec. SARH-INIFAP. Morelos, México. p. 24.
- Pares, R.D. and Guun, L.V. 1989. The role of nonvectored soil transmission as a primary source of infection by pepper mild mottle and cucumber mosaic viruses in glasshouse-grown *Capsicum* in Australia. *Jornal-of-Phytopathology* 126:4, 353-360.
- Pérez, V. J. 1988. Detección de virus de tomate (*L. esculentum* Mill.) en el Valle de Culiacán, Sin. Memoria del XV Congreso Nacional de Fitopatología. Xalapa, Ver. p. 113.
- Pinto, C. B. 1993. Resúmenes de enfermedades causadas por virus (caracterización de virus). Mimeografiado. Parasitología Agrícola UACH. Chapingo, México.
- Piña, R. J. 1984. Guía para producir chile habanero en suelos arables de Yucatán. SARH-CIAPY-CAEUX. Folleto para productores núm. 7. Mérida, Yuc. p. 14.
- Purcifull, D.E., and Hiebert, E. 1982. Tobacco etch virus. Descriptions of plant viruses. No. 258. CMI/AAB Kew Surrey, England. 7 p.

- Ramírez, V. J; López, V. J. y López V. C. 1990. Enfermedades del tomate (*Lycopersicon esculentum* M.U) en Yurécuaro y Tanuato Michoacán. Memoria del XVII Congreso Nacional de Fitopatología. Culicán, Sin. p-57.
- Rast, ATB. 1991. Screening germoplasm of *Solanum melongena* for resistencia to the eggplant strain of bell pepper mottle virus (BPMV) and other tobamoviruses. Capsicum Newsletter No. 10 p. 26-28.
- Raymond, A.G. 1985. Vegetable seed production. Ed. Longman. New York. USA.
- Rendón, P.E. 1986. Primer taller sobre enfermedades de hortalizas. México-EU. 15 y 16 de diciembre de 1986. SARH-CAADES (Confederación de Asociaciones Agrícolas del Edo. de Sinaloa). Univ. de California USA-Sinaloa. México. pp. 88-100.
- Reyes, C.P. 1980. Bioestadística aplicada. Editorial Trillas, S.A. México, D. F. pp. 172-173.
- Rodríguez, L. E. 1992. Virus que dañan al jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en México y métodos de control. Revisión de literatura. Tesis profesional. UACH. Chapingo, México.
- Russell, G.E. 1978. Plant breeding for pest and disease resistance. Ed. Butter Worths, London. pp. 208-266.
- SARH, INIA, CIAPY, CAEZOHE. 1981. Logros y aportaciones de la investigación agrícola en el estado de Yucatán. Mérida, Yuc. México.
- SARH, Subsecretaría de Planeación, DGEA 1993. Producción Agrícola 1992.
- Soria, F.M.J.; Pérez, M; Pozo, A; Terán, S.R; Cituk, Ch, D. 1992. Híbridos de tomate (*Lycopersicon esculentum*) tolerantes a enfermedades y nemátodos, una alternativa para los horticultores de Yucatán. Horticultura y ganadería tropical Núm. 1. Enero, febrero y marzo de 1992. Centro de Investigación y Graduados Agropecuarios del ITA No. 2 Conkal Yucatán. p. 17-28.
- Stace, S.R. 1970. Tobacco Ringspot virus. Description of plants viruses No. 17 C.M.1/AAB. Kew

Surrey, England.

- Tanzi, M; Betti, L; Canova, A. 1986. Behaviour of two new commercial pepper cvs. With L1L3 genotype towards TMV pepper strain infection. *Capsicum Newsletter* No. 5, 45.
- Taylor, J. B. 1986. Biosystematics of the tomato. En: *The tomato crop. A scientific basis for improvement*. Atherton, J.G. y J. Rudich (Eds) Chapman and Hall New York, USA p. 1-31.
- Teliz, O. D. y Mora, A. G. 1986. Inmunosorbencia con enzimas conjugadas. *Rev. Mex. Fitopatología* 4:133-141. Chapingo, México.
- Terán, V. A. y Cruz, R. P. 1991. Transmisión de virosis en chile serrano por mosquita blanca colectada en diferentes hospederas en el sur de Tamaulipas. *Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas A.C. IV Congreso Nacional UAAAN*, Saltillo, Coah. p. 205.
- Tigchelaar, E.C. 1986. Tomato breeding vegetable crops. Mark. J. Bassett (Ed). Department University of Florida. Av. Publishing company Gaines Ville, Florida p. 135-171.
- Tomas, B.R. and Pratt, D. 1981. Efficient hybridization between *Lycopersicon esculentum* and *peruvianum* vía embryo callus. *Theor. Appl. Genet.* 59, pp. 215-219.
- Velázquez, M. J. 1989. Etiología, transmisión y relaciones agente causal de una enfermedad en jitomate (*L. esculentum* Mill) transmisible por *Trialeurodes vaporariorum* (West en el estado de Morelos. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Fitopatología. CP. Montecillos, México.
- Verdugo, G. F. 1989. Etiología de una nueva enfermedad del tomate en Sinaloa: supervivencia. *Memoria del XVI Congreso nacional de Fitopatología*. Montecillos, Méx. p. 14.
- Watterson, J.C. 1986. Diseases. En: *The tomato crop. A scientific basis for improvement*. Atherton, J.G. y J. Rudich (Eds). Chapman and Hall. New York, USA. pp. 443-473.
- Wetter, C. 1984. Serological identification of four tobamoviruses infecting pepper plant. *Disease* 68:7, pp. 595-599.

- Yang, C. H.Y. 1978. Bacterial and fungal diseases of tomato En: Inst. International symposium on tropical. AVRDC Robert Cowell (Ed) Taiwan, China. pp. 111-122.
- Zaittin, M. and Israel, H.W. 1975. Tobacco mosaic virus. Descriptions of plant viruses. No. 151. CMI/AAB Kew surrey, England.
- Zapata, N. M; Bañón, A. S. y Cabrera, F. P. 1992. El pimiento para pimenton. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España.