

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

**DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
INSTITUTO DE HORTICULTURA**

**RESISTENCIA A VIRUS EN GERMOPLASMA DE
TOMATE DE CÁSCARA (*Physalis spp.*)**

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

**PRESENTA
CRISTIAN LÓPEZ SÁNCHEZ**



**DICIEMBRE DE 2015
CHAPINGO, ESTADO DE MÉXICO**



Instituto de Horticultura

RESISTENCIA A VIRUS EN GERMOPLASMA DE TOMATE DE CÁSCARA
(*Physalis spp.*)

Tesis realizada por **Cristian López Sánchez** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR:



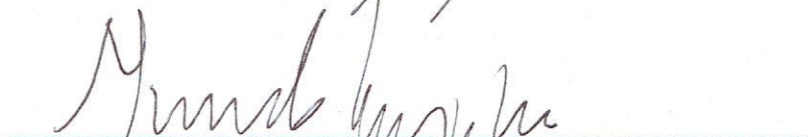
DR. AURELIANO PEÑA LOMELÍ

ASESOR:



DR. HÉCTOR LOZOYA SALDAÑA

ASESOR:



DR. SANTOS GERARDO LEYVA MIR

ASESOR:



M.C. NATANAEL MAGAÑA LIRA

DEDICATORIA

Dedico este trabajo con mucho amor a mi familia, especialmente a mis abuelos: Imelda Castro Martínez y Emilio Sánchez Orozco, que por medio de su cariño, enseñanzas, confianza y apoyo incondicional me han permitido alcanzar innumerables logros.

A mi madre Griselda Sánchez Castro, a quien quiero mucho y agradezco su incondicional apoyo y consejos.

A mis hermanos Manuel, Brenda y Sabrina. A mis tíos Alfredo, Emilio, Isabel, Joel, Braulio y Eloy. Gracias por el cariño y los momentos agradables que me regalan cada día.

A Lucía Zamora Gallegos, gracias por estos maravillosos años contigo, a tus enseñanzas, consejos y apoyo incondicional; siempre estarás en mi corazón.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo, maravillosa institución que me ha forjado profesionalmente.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por haberme otorgado la beca que hizo posible lograr un grado más en mi formación profesional.

A mi comité asesor: Dr. Aureliano Peña Lomelí, Dr. Héctor Lozoya Saldaña, Dr. Santos Gerardo Leyva Mir, M.C. Natanael Magaña Lira del Departamento de Fitotecnia y Parasitología Agrícola, por su apoyo, enseñanzas y experiencia para realizar este trabajo de investigación.

Al Instituto de Horticultura del Departamento de Fitotecnia por darme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado.

Al personal técnico del invernadero, Cesar y Omar amigos y colegas de trabajo.

A todos los profesores del Posgrado de Horticultura que contribuyeron en mi formación profesional.

DATOS BIOGRAFICOS

Cristian López Sánchez nació el 11 de Marzo de 1990 en San Francisco Telixtlahuaca, Municipio de Etla. Realizó sus estudios de licenciatura en el Departamento de Parasitología Agrícola en la Universidad Autónoma Chapingo, generación 2008-2012.

Participó en la campaña de control de la langosta, ácaro rojo de las palmas y la palomilla del nopal en el estado de Yucatán en la Junta Local de Sanidad Vegetal de dicho estado, trabajó en el programa de mejoramiento genético de trigo del INIFAP para detectar, identificar y controlar la roya del trigo, durante su estancia profesional en dicha institución.

En enero de 2014 ingresó a la Maestría en Ciencias en Horticultura en el Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Importancia del cultivo de tomate de cáscara.....	1
1.2 Justificación.....	3
1.3 Objetivo general.....	4
1.3.1 Objetivos particulares.....	5
1.4 Hipótesis.....	5
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
2.1 Generalidades del tomate de cáscara (<i>Physalis spp.</i>).....	6
2.2 Morfología y taxonomía del tomate de cáscara.....	7
2.3 Generalidades de los virus.....	8
2.3.1 Definición.....	8
2.3.2 Transmisión de virus.....	9
2.4 Virus relacionados al cultivo de tomate de cáscara.....	10
2.4.1 TEV (Virus Jaspeado del Tabaco).....	11
2.4.2 CMV (Virus Mosaico del Pepino).....	12
2.4.3 AMV (Virus Mosaico de la Alfalfa).....	13
2.4.4 TSWV (Virus de la Marchitez Manchada del Tomate).....	14
2.4.5 TMV (Virus del Mosaico del Tabaco).....	16
2.5 Técnicas de detección de virus fitopatógenos.....	16
2.6 Resistencia de las plantas a los virus.....	19
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
3.1 Localización del experimento.....	24
3.2 Factores de estudio.....	24
3.3 Fertilización y manejo de las plántulas.....	25
3.4 Diseño de tratamientos.....	26
3.5 Inoculación.....	28
3.6 Variables evaluadas.....	29
3.6.1 Síntomas.....	29
3.6.2 Severidad.....	29
3.6.3 Incidencia.....	30
3.6.4 Altura de plántula.....	30
3.6.5 Número de hojas.....	30
3.7 Pruebas de ELISA.....	31
3.8 Diseño experimental.....	32
3.9 Análisis estadístico.....	32
3.10 Modelo lineal del análisis de varianza factorial completo.....	33

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
4.1 Efecto general de los tratamientos aplicados a <i>Physalis spp.</i>.....	34
4.1.1 Síntomas inducidos por AMV.....	34
4.1.2 Síntomas inducidos por TSWV.....	34
4.1.3 Síntomas inducidos por CMV.....	35
4.1.4 Síntomas inducidos por TEV.....	35
4.1.5 Síntomas inducidos por TMV.....	35
4.1.6 Escala visual para la evaluación de la sintomatología.....	36
4.2 Análisis de varianza.....	39
4.3 Pruebas de comparación de medias por factor.....	40
4.3.1 Factor accesiones.....	40
4.3.2 Factor virus.....	44
4.4 Pruebas de ELISA.....	45
4.5 Análisis conjunto.....	48
V. CONCLUSIONES.....	52
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	53

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.	Relación de accesiones de <i>Physalis spp.</i> descartadas por escasa germinación.....	25
Cuadro 2.	Relación de accesiones de <i>Physalis spp.</i> utilizados en la investigación.....	27
Cuadro 3.	Análisis de varianza de cuatro variables medidas en 150 accesiones de tomate de cáscara (<i>Physalis spp.</i>) de acuerdo al comportamiento de cinco virus que afectan a dicho cultivo.....	40
Cuadro 4.	Comparación de medias de altura y número de hojas evaluadas en plántulas de tomate de cáscara (<i>Physalis spp.</i>) con respecto al factor accesiones.....	42
Cuadro 5.	Comparación de medias de Incidencia (IN) y Severidad (SE) evaluadas en plántulas de tomate de cáscara (<i>Physalis spp.</i>) en los diferentes tratamientos con respecto a las accesiones.....	43
Cuadro 6.	Comparación de medias de las variables evaluadas en plántulas de tomate de cáscara (<i>Physalis spp.</i>) en los diferentes tratamientos con respecto a virus.....	45
Cuadro 7.	Resultados de las pruebas serológicas de ELISA realizadas en plántulas de (<i>Physalis spp.</i>) inoculadas con diferentes virus.....	47
Cuadro 8.	Accesiones con mayor y menor resistencia o tolerancia con base en pruebas de ELISA, incidencia y severidad.....	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Escala visual de la sintomatología provocada por AMV en plántulas de tomate de cáscara (<i>Physalis spp.</i>) en porcentaje.....	37
Figura 2.	Escala visual de la sintomatología provocada por TSWV en plántulas de tomate de cáscara (<i>Physalis spp.</i>) en porcentaje. A) diferencia de alturas en cuanto a porcentajes de infección y síntomas causados por TSWV.....	37
Figura 3.	Escala visual de la sintomatología provocada por CMV en plántulas de tomate de cáscara (<i>Physalis spp.</i>) expresada en porcentaje y plántulas infectadas con CMV.....	38
Figura 4.	Escala visual de la sintomatología provocada por TMV en plántulas de tomate de cáscara (<i>Physalis spp.</i>) expresada en porcentaje.....	38
Figura 5.	Escala visual de la sintomatología provocada por TMV en plántulas de tomate de cáscara (<i>Physalis spp.</i>) expresada en porcentaje.....	39
Figura 6.	Escala visual de la sintomatología provocada por TMV en plántulas de tomate de cáscara (<i>Physalis spp.</i>) llamadas lesiones locales.....	39

RESISTENCIA A VIRUS EN GERMOPLASMA DE TOMATE DE CÁSCARA (*Physalis spp.*)

Cristian López Sánchez¹ y Aureliano Peña Lomelí²

RESUMEN

Las enfermedades virales representan el mayor problema a nivel nacional por el daño que causan al cultivo de tomate de cáscara y por la dificultad de su manejo. El objetivo de la investigación fue detectar posibles fuentes de resistencia a enfermedades virales en 180 accesiones de germoplasma de tomate de cascara de la Universidad Autónoma Chapingo. Se inocularon mecánicamente los virus de manera individual a nivel de plántula: TEV, CMV, AMV, TSWV, TMV, con una solución vírica a 1×10^{10} partículas virales por mililitro. Se realizaron tres evaluaciones semanales de altura y número de hojas y dos cada 15 días para incidencia y severidad. De acuerdo a severidad la accesión menos afectada fue la 35 y la accesión más afectada fue la 141. Las pruebas de ELISA arrojaron resultados negativos para las accesiones 26 para TEV, y 35 y 147 para TMV. Las accesiones que presentaron tolerancia a más virus fueron la 147 y 26.

Palabras clave: accesiones, solución vírica, partículas virales, pruebas de ELISA.

ABSTRACT

The difficulty involved in managing viral diseases in husk tomato represents one of the mayor problems facing this crop at the national level. The aim of this research was to identify potential sources of resistance to viral diseases in 180 husk tomato germplasm accessions stored at Autonomous Chapingo University. The following viruses were mechanically inoculated to the seedling: TEV, CMV, AMV, TSWV, and TMV, with a viral solution at 1×10^{10} viral particles per milliliter. Three weekly assessments of height and number of leaves, and two every 15 days for incidence and severity were performed. According to severity data the least affected accession was number 35 and the most affected was 141. The ELISA tests showed negative results for accessions 26 for TEV, and 35 and 147 for TMV. The accessions that presented tolerance to the most viruses were 147 and 26.

Keywords: accessions, viral solution, viral particles, ELISA tests.

¹Autor de la tesis/Graduated student

²Director/ Thesis advisor.

I. INTRODUCCIÓN

El tomate de cascara (*Physalis spp.*) es una de las principales hortalizas en México junto con el chile (*Capsicum annum* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.), jitomate o tomate rojo (*Solanum lycopersicum* L.), sandía (*Citrullus vulgaris* Schard. ex Eckl. & Zeyh), cebolla (*Allium cepa* L.) y pepino (*Cucumis sativus*) (Santiaguillo *et al.*, 2010; SIAP, 2013). Pertenece a la familia Solanaceae y subfamilia Solanoideae, tribu Solaneae, que contempla 18 géneros (Valtierra y Ramos, 2003). Dentro del género *Physalis* se ha estimado que existen alrededor de 100 especies, de las cuales más de 50 % son endémicas del territorio nacional por lo cual México se considera el centro de origen y diversidad del taxón (D'Arcy, 1973; Martínez, 1998).

1.1 Importancia del cultivo de tomate de cáscara

En el mundo se reportan de 80 a 120 especies dependiendo del autor consultado. Se indica que 70 de ellas se encuentran restringidas a México, 17 más se extienden a EUA y América Central y tres a Guatemala; muy pocas especies se localizan en el este de Asia, India, Australia, Europa y África tropical. El número de especies y la alta riqueza genética de *Physalis* en México se expresa en la existencia de numerosas especies silvestres, toleradas, fomentadas, cultivadas y domésticas, asociadas a diferentes tipos de vegetación y condiciones ecológicas (Peña y Santiaguillo, 1999).

Las especies de *Physalis* se distribuyen en toda la República Mexicana, en una gran diversidad de ambientes, por lo que se les puede encontrar desde el nivel

del mar hasta los 3570 msnm. La mayoría de las especies prevalecen en estado silvestre, aproximadamente 19 se recolectan en varios estados de México (Santiaguillo *et al.*, 2012) y sólo *P. ixocarpa* es cultivada comercialmente por su redituabilidad (Pérez y Granados, 2001).

La producción del tomate de cáscara ha tomado importancia en los últimos 30 años, periodo en que se duplicado su producción, debido a su fácil manejo, a la alta demanda por parte de la población, y a la intensificación de la tecnología de producción. En 1980 se establecieron 21 mil hectáreas y en 2010 se incrementaron a 48 mil (Santiaguillo *et al.*, 2012), en el periodo de 1990 al 2013 la producción nacional se incrementó de 272,628 a 588,224.94 toneladas. En la actualidad se encuentra dentro de los diez cultivos hortícolas de mayor importancia en México ocupando el séptimo lugar después del jitomate, chile, papa, cebolla, sandía y pepino. Se cultiva en 26 estados de la República Mexicana con una superficie total en 2013 de 44,522.36 ha y con un rendimiento medio de 14.682 t·ha⁻¹, siendo Jalisco, Nayarit, Sinaloa, Estado de México, Puebla y Michoacán los estados con mayor producción (SIAP, 2013).

El tomate de cáscara tiene un alto nivel productivo como lo demuestran los estudios realizados por Soldevilla *et al.* (2002), en los que obtuvieron rendimientos superiores a 83 t/ha utilizado acolchado plástico, fertirrigación, espalderas e inyección de CO₂ al sistema de riego. No obstante, en la actualidad el cultivo es seriamente atacado por diversos fitopatógenos, lo que reduce significativamente su rendimiento. Particularmente, los virus más importantes son: virus jaspeado del tabaco (TEV), virus mosaico del pepino

(CMV), virus marchitez manchada del tomate (TSWV), mancha necrótica de Belenes (*Impatiens sp.*) (INSV), mancha anular del tabaco (TRSV), virus mosaico del alfalfa (AMV) y mosaico del tabaco (TMV) (De la Torre *et al.*, 2002 y 2003).

1.2 Justificación

La presente investigación forma parte del Programa de Mejoramiento Genético de Tomate de Cáscara de la Universidad Autónoma Chapingo, con la que se busca encontrar materiales resistentes en las accesiones presentes en el banco de germoplasma de la misma universidad, ya que son materiales colectados en toda la República Mexicana y que por ende existe gran diversidad genética.

Las enfermedades de origen viral representan en la actualidad uno de los retos más serios e importantes en los sistemas de producción de las plantas cultivadas en México y el mundo. Su importancia o impacto radican en que reducen la producción y calidad en los cultivos, por no contar con herramientas químicas para su combate o control, por lo difícil o caro que resulta el diagnóstico de estas enfermedades, por la mezcla de virus que se presentan en la naturaleza y por la facilidad de transmisión (Urías y Valenzuela, 1992; Martínez, 2000).

Los principales cambios fisiológicos y bioquímicos que comúnmente presentan las plantas afectadas con un determinado virus son: a) disminución de la tasa fotosintética, a menudo asociada con una reducción de pigmentos fotosintéticos, disminución de ribosomas en los cloroplastos y de Rubisco; b) incremento en la tasa de respiración; c) incremento en la actividad de enzimas

como la poliferol-oxidasa; d) disminución o incremento de reguladores de crecimiento de las plantas. Es de importancia mencionar que un solo cambio en un gen del hospedero o un solo punto de mutación en el virus puede provocar que una infección o sintomatología leves se tornen en una enfermedad severa; sin embargo, una mayor alteración en el metabolismo del hospedero no necesariamente está determinada por una mayor actividad de replicación o multiplicación del virus (Matthews, 1992).

Los trabajos de investigación para proteger a las plantas contra los virus se han enfocado a tres aspectos: 1) interferir en el comportamiento del vector, 2) interferir en el proceso de transmisión del virus por el vector y 3) interferir con la multiplicación del virus en el hospedero (Garzón, 1987; Martínez, 2000); para tomate de cáscara la información sobre resistencia a virus es escasa, por lo que de acuerdo a la importancia del cultivo y a la gran diversidad genética con que se cuenta en México, es conveniente encontrar fuentes de resistencia a los cinco virus más importantes de la especie (TEV, CMV, AMV, TSWV y TMV), con el propósito de incorporarlas a un programa de mejoramiento genético y a través de nuevas variedades reducir las pérdidas en rendimiento que provocan las enfermedades virales.

1.3 Objetivo general

- 1) Evaluar 180 accesiones de tomate de cáscara preservadas en el Banco Nacional de Germoplasma de Especies Nativas de la Universidad Autónoma Chapingo, con el propósito de identificar

posibles fuentes de resistencia o tolerancia a los virus que atacan al cultivo.

1.3.1 Objetivo particular

Identificar los materiales que presenten resistencia a la mayor cantidad de virus evaluados.

1.4 Hipótesis

De los 180 materiales a evaluar al menos uno presentará resistencia a por lo menos uno de los cinco virus estudiados.

Todos los virus presentaran sintomatología pero no en todos los materiales.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Origen y distribución del tomate de cáscara (*Physalis spp.*)

El tomate de cáscara se considera originario del continente Americano, crece en forma silvestre en la vertiente del pacífico mexicano desde la frontera con Estados Unidos hasta Guatemala y Nicaragua; razón por la cual México es fuente de germoplasma. El género *Physalis* está confinado principalmente a las zonas templadas de América, con unas cuantas especies en el este de Asia, India, Australia, Europa y África tropical (Menzel, 1951).

Según Pandey (1957) las especies de *Physalis spp.* que se cultivan para aprovechar sus frutos son principalmente: *P. perubiana* en Perú, Haití, Costa Rica, algunas partes de Australia, Sur de África, India y Nueva Zelanda; *P. pruinosa* en América; y *P. ixocarpa* en México y Centro América. Otras especies se presentan como malezas en los cultivos o son utilizadas como plantas de ornato.

México presenta una gran diversidad genética de *Physalis spp.* y es centro de origen y diversificación del tomate de cáscara, especie que se encuentra ampliamente distribuida en el país y cuya mayor concentración se encuentra en el Centro Occidente (Santiaguillo *et al.*, 2010). Como parte de los trabajos de la Red de Tomate de Cáscara del Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos, actualmente se cuenta con 1063 accesiones de *Physalis*, colectados en la mayoría de los estados de la República Mexicana y resguardadas en tres Bancos de Germoplasma (Santiaguillo *et al.*, 2012).

2.2 Morfología y taxonomía del tomate de cáscara

Es una planta herbácea, anual, de 40 -120 cm de altura; el ciclo es de 85 a 90 días desde la siembra hasta la senescencia; presenta tres tipos de hábitos de crecimiento: rastrero, erecto y semierecto.

Presenta hojas simples, erectas, alternadas, de forma ovalada y peciolada, cuyo pecíolo mide de 4 a 6.5 cm de longitud; el fruto es una baya amarilla o verdosa de 1 a 6 cm de diámetro (Saray *et al.*, 1978). Las flores se encuentran en el eje axial y algunas veces se encuentran en las ramas; presenta corola campanulada, con pétalos amarillos y usualmente con manchas de color purpura oscuro cerca de la base; el cáliz está unido a manera de bolsa que se extiende y recubre al fruto (Velasco, 2006).

Según Santiaguillo *et al.* (2010) las características morfológicas son las siguientes:

Tallos. Ramificación dicotómica, cilíndrico, lisos, poco angulados o angulados; en algunas especies llegan a enraizar en los nudos basales.

Hojas. Peciolas, alternas, pero a veces dos o aún tres aparentemente juntas debido a la reducción de los entre nudos, láminas foliares generalmente ovadas, en ocasiones orbicular lanceoladas o linear lanceoladas, el margen entero, repando, sinuado, acerrado, o dentado.

Flores. Pediceladas, generalmente solitarias en las axilas de las hojas, a veces varias y fasciculadas, raramente en falsos racimos.

Corolas. Raramente tubular expandidas a campanulada-rotáceas, urceoladas o el limbo más o menos reflejo, de color amarillo, amarillo verdoso o amarillo crema, blanco o púrpura, con cinco manchas contrastantes ocupando

superficies variables de área arriba de la parte tubular, sólidas en color o cada una consistiendo de varios a muchos puntos separados, a veces las manchas no contrastan fuertemente, o bien ausentes. Estambres 5, anteras con dehiscencia longitudinal, oblongas a linear-oblongas a ovadas, púrpuras, azules, azules-verdosas, azules con una línea amarilla o amarillas, filamentos filiformes; ovario con un estilo filiforme, estigma claviforme, algunas veces capitado.

Cáliz. En el fruto acrecente, inflado vesicular, cubre por completo a la baya durante la fructificación, 5-angulado o 10-angulado, con 5 ángulos más prominentes o cilíndrico, de menos de uno a 6 cm de largo, en la mayoría de las especies de 1-2.5 cm de ancho; lóbulos del cáliz ovados, lanceolados, deltoides o angostamente triangulares, el ápice agudo, corto acuminado, subulado o caudado subulado.

Fruto. Baya succulenta, de color blanco, verde, amarillo, anaranjado, o púrpura, de 0.8-1.5 cm de diámetro y hasta 6 cm en el tomate cultivado; semillas numerosas, reniformes, amarillas o de color café.

2.3 Generalidades de los virus

2.3.1 Definición

Un virus es un grupo de una o más moléculas de ácido nucleico genómico, normalmente encerrado en una cubierta protectora o cubiertas de proteína o lipoproteína, la cual es capaz de realizar su propia replicación sólo dentro de las células hospederas aceptables o con las condiciones favorables. Dentro de tales células, la replicación viral es: 1) dependiente de la maquinaria sintetizadora de proteínas del hospedero; 2) derivada de "pools" de los

materiales requeridos, más que por fisión binaria; y 3) localizadas en sitios no separados de los contenidos de las células hospederas por una membrana bicapa de lipoproteína (Matthews, 1992).

Varían ampliamente en tamaño y forma, pero todos son muy pequeños en relación con el tamaño de las células que infectan. Esto se hace notable al analizar una célula típica del mesófilo del tabaco que posee un volumen de $2 \times 10^{13} \text{ nm}^3$ aproximadamente, un virus vegetal grande mide alrededor de $6 \times 10^5 \text{ nm}^3$ y un virus vegetal pequeño alrededor de $2 \times 10^4 \text{ nm}^3$. Así una típica célula vegetal conteniendo 10 millones de partículas de un virus pequeño sólo tendría el 1% de su volumen ocupado por el virus (Matthews, 1992; Martínez, 2000).

2.3.2 Transmisión de virus

Los virus fitopatógenos nunca o casi nunca abandonan espontáneamente a las plantas, por esta razón los virus no son diseminados por el viento o por el agua incluso cuando son transportados en la savia o en los restos de las plantas. En general no producen infecciones a menos que entren en contacto con los contenidos de una célula viva dañada, sin embargo son transmitidos de planta a planta mediante diversas formas como la propagación vegetativa, mecánicamente a través de la savia o por medio de semillas, polen, insectos, ácaros, nemátodos, la cúscuta, y los hongos (Agrios, 2005).

Los virus necesitan que las células estén dañadas o que las plantas presenten heridas para poder ser introducidos. Muchos de ellos tienen la capacidad de ser transmitidos de diferente manera. El CMV puede ser transmitido por más de 60

especies de áfidos en forma no persistente, se transmiten de manera mecánica en diferentes maneras culturales y por medio de semilla, en diferentes porcentajes. El TMV se transmite fácilmente en forma mecánica mediante rozamiento de plantas enfermas y sanas, podas, movimiento de animales dentro del cultivo y por medio de semilla; cabe aclarar que no tiene un vector específico, por lo que se limita a diseminarse por las formas antes señaladas. La gran facilidad de transmisión mecánica permite su dispersión y supervivencia (Urías y Valenzuela, 1992; Martínez, 2000).

2.4 Virus relacionados al cultivo de tomate de cáscara

En México es común observar ésta hortaliza presentando diversos síntomas que pueden ser de origen viral. Los síntomas más comunes son: diversos tipos de mosaicos; alargamiento, deformación o reducción de la lámina foliar; amarillamiento de nervaduras; cálico (moteado amarillo brillante con márgenes bien definidos, que se inicia en la punta o la base de las hojas); marchitez; exceso de brotación foliar, con reducción del tamaño de hojas y entrenudos causando enanismo, necrosis, clorosis, deformaciones y epinastia (De la Torre, 1996; Agrios, 2005).

De la Torre-Almaráz *et al.* (2004) reportaron los siguientes virus asociados al cultivo de tomate de cáscara: Virus Jaspeado del Tabaco (Tobacco Etch Virus, TEV), Virus Mosaico del Pepino (Cucumber Mosaic Virus, CMV), Virus Mosaico de la Alfalfa (Alfalfa Mosaic Virus, AMV), Virus de la Marchitez Manchada del Tomate (Tomato Spotted Wilt Virus, TSWV), Virus Mosaico del Tabaco

(Tobacco Mosaic Virus, TMV), Virus Mancha Anular del Tabaco (Tobacco Ring Spot Virus, TRSV), Virus Huasteco del Chile (Pepper Huasteco Virus, PHV).

La primera publicación relacionada con la susceptibilidad de especies de *Physalis spp.* a virus es la reportada por Horváth en 1988. Con subsecuentes experimentos se demostró que *Physalis ixocarpa* es susceptible a virus mosaico del pepino, virus mosaico de la papa aucuba, virus mosaico del tabaco, virus de la necrosis del tabaco, virus de la mancha anular del tabaco, virus mosaico del arabis, virus del mosaico amarillo del frijol, virus moteado de la belladona, virus de la pudrición de haba, virus de la mancha anular del clavel, virus del mosaico de la lechuga, virus del fleco amarillo de melandrium, virus aspermya del tomate, virus mosaico del tomate, virus de la mancha anular del tomate y virus mosaico del tulipán (Horváth, 1970).

En algunos casos es posible identificar virus mediante su sintomatología; sin embargo, para una identificación plena es fundamental y necesario el uso de métodos más rápidos y confiables como ELISA, PCR Y RT-PCR. Una técnica que se ha convertido en una herramienta muy valiosa de detección es la ELISA, lo que se debe a su sensibilidad ya que permite detectar concentraciones muy bajas del patógeno y además se pueden procesar muchas muestras al mismo tiempo (Robles-Hernández *et al.*, 2010).

2.4.1 TEV (Virus Jaspeado del Tabaco)

Pertenece a la familia *Potyviridae* y al género *Potyvirus*; de varilla flexible, causa inclusiones celulares granulosa y fibrosa vacuolada extracelular en tomate; la presencia de cristales intranucleares puede relacionarse con el virus

jaspeado del tabaco. Se han observado en tomate, chile y tabaco inclusiones del tipo citoplásmicas granulosas cerca del núcleo, casi de su mismo tamaño, e incluso se han observado inclusiones de formas cuadradas o rectangulares, además de cristales triangulares en el citoplasma (Robles-Hernández *et al.*, 2010).

Reddick (2003) reporta que la transmisión de este virus se da de manera mecánica, por semilla y por áfidos de manera no persistente; también menciona que se ha detectado en áfidos virulíferos de la especie *Myzus persicae*.

Existen pocos reportes de plantas de *P. ixocarpa* Brot. inoculadas con el virus TEV; no obstante, se menciona que no hay formación de lesiones locales y sistémicamente las plantas presentan daños severos aunque no presentan síntomas (Greenleaf, 1953).

En México el TEV se reporta en el valle de Culiacán, norte de Sinaloa y Yucatán, sin dejar a un lado la importancia a nivel mundial debido al daño que provoca en la producción y rendimiento no solo de tomate sino de muchos cultivos, principalmente en la familia de las solanáceas. Puede causar necrosis en hojas de tomate y chile serrano, provoca enchinamiento en las hojas, reducción del crecimiento, amarillamiento y un mosaico fuerte (coloración de tonos verde y amarillo); los frutos se deforman y se tornan amarillentos reduciendo la calidad y presentación comercial (Reddick, 2003).

2.4.2 CMV (Virus Mosaico del Pepino)

De acuerdo a Astier *et al.* (2006) el CMV pertenece a la familia *Bromoviridae* y al género *Cucumovirus*, es un virus con partículas de 25 nm con simetría

isométrica. La cápside está compuesta por más de 180 subunidades, tres cadenas de ARN y dos subgenomas, la transmisión se facilita a través de la savia y también por medio de áfidos como el áfido común del durazno de manera no persistente; mecánicamente por semilla en melón y calabaza y por áfidos como *Aphis gossypii* y *Myzus persicae*. El CMV fue encontrado por primera vez en México en 1974, afectando plantas de chile en la región sur de Tamaulipas, Bajío y Culiacán, Sinaloa. Es muy común encontrar al CMV asociado con otros virus, como el virus jaspeado del tabaco (TEV), por lo que es difícil estimar los daños que causa por si solo el virus CMV (Robles-Hernández *et al*, 2010).

El CMV puede causar síntomas como defoliación, necrosis en puntos de crecimiento de plantas jóvenes y aborto de flores; en plantas en floración puede causar necrosis o muerte de tejidos nuevos y por ende la caída de flores y hojas jóvenes, así como la disminución del número de frutos por planta (Murphy, 2003; Pérez y Rico, 2004).

2.4.3 AMV (Virus Mosaico de la Alfalfa)

Astier *et al.* (2006) mencionan que el AMV pertenece a la familia *Bromoviridae* y al género *Alfavirus*, su genoma consta de tres componentes distintos de ARN de cadena simple junto con un componente subgenómico de ARN, un ARN mensajero el cual codifica la proteína de la cápside viral. El virión completo está constituido por cuatro partículas baciliformes de 18 nm y 30-56 nm de largo.

Es transmitido de manera no persistente por lo menos en 14 especies de áfidos como el áfido verde del durazno (*Myzus persicae*), áfido del chicharo (*Acyrtosiphon pisum*), áfido azul de la alfalfa (*A. kondoi*) por mencionar algunos; estos vectores pueden adquirir el virus a los pocos minutos de haberse alimentado de plantas infectadas y transmitirlo de manera inmediata a plantas sanas (Robles-Hernández *et al.*, 2010).

De acuerdo a Creamer (2003) el AMV puede causar pérdidas en el rendimiento de hasta un 65 %. Astier *et al.* (2006) y Creamer (2003) mencionan que los síntomas típicos de este virus en plantas de chile son un mosaico amarillo brillante en hojas y manchas blancas en un patrón de mosaico; en plantas jóvenes, estas se atrofian y producen frutos deformes. Estudios revelan que el AMV inoculado en hojas de *P. ixocarpa* no induce lesiones locales, pero en forma sistémica se induce un aclaramiento venal y un mosaico intervenal severo (Horváth, 1970). De la Torre *et al.* (1998) mencionan que esta enfermedad está ampliamente distribuida en parcelas comerciales de tomate de cáscara en los Estados de México, Morelos, Puebla, Tlaxcala e Hidalgo, en siembras de temporal y riego. En sus estudios muestra que la incidencia del AMV es mayor en las siembras de riego en marzo y abril, y disminuye en las siembras de temporal de mayo y junio, cuando son frecuentes las infecciones por virus como TMV, CMV , TEV y TSWV. Los mismos autores determinaron que, utilizando técnicas de serología y transmisión mecánica, el virus mosaico de la alfalfa sobrevive en otros cultivos adyacentes al tomate de cáscara como

alfalfa, haba, cilantro y tabaco silvestre (*Nicotiana glauca* L.) (De la Torre *et al.*, 1998).

2.4.4 TSWV (Virus de la Marchitez Manchada del Tomate)

El virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV) pertenece a la familia *Bunyaviridae* y al género *Tospovirus*; es una partícula globular pleomórfica de 80-100 nm aproximadamente y contiene tres partículas ribonucleoproteicas (Astier *et al.*, 2006). En la actualidad es considerado como uno de los diez virus más importantes debido a su distribución mundial y sobre todo por los daños que causa a más de 650 especies de plantas. Ataca especies de importancia económica como chícharo (*Pisum sativum*), cacahuete (*Arachys hypogaea*), chile (*Capsicum annuum*), papa (*Solanum tuberosum*), tabaco (*Nicotiana tabacum*), tomate (*Solanum lycopersicum*), apio (*Apium graveolens*), y algunas ornamentales como crisantemo (*Chrysanthemum morifolium*), dalia (*Dahlia sp.*), gerbera (*Gerbera jamesonii*) e iris (*Iris spp.*) (Best, 1968).

Estudios realizados en tomate mencionan que se han observado inclusiones citoplasmáticas amorfas y esféricas adyacentes al núcleo. Es transmitido por trips de manera persistente y es adquirido por el vector únicamente en estado ninfal y no en estado adulto; algunas especies de trips vectores de este virus son: *Trips tabaci*, *Frankliniella fusca*, *F. schultzei* y *F. occidentalis*, también es transmitido de manera mecánica y por semilla (Adkins, 2003; Pérez y Rico, 2004). Los mismos autores mencionan que los síntomas que provoca el virus TSWV son necrosis en los folíolos de las hojas, en tallo y hojas o manchas y/o líneas de color café oscuro, escaso desarrollo y hojas marchitas en plantas

infectadas, curvamiento de peciolo hacia abajo y muerte descendente de estos; otro síntoma y característica más importante es la presencia de círculos necróticos en los frutos.

Verdugo (1989) menciona que en un estudio realizado en Sinaloa se aisló TSWV de plantas de tomate de cáscara y otras malezas, que al ser inoculado en *Solanum lycopersicum* este presentó síntomas de bronceado de nervaduras, necrosis de folíolos y manchas anulares necróticas en hojas y frutos.

2.4.5 TMV (Virus Mosaico del Tabaco)

El virus mosaico de tabaco (TMV) perteneciente al género Tobamovirus, que aún no es ubicado en una familia, presenta una partícula de una cadena de 300 nm x 18 nm con simetría helicoidal; la subunidad de la cápside es de 18 KDa, lo anterior se ha observado en *Nicotiana tabacum* var. *Xanthi*. Se han observado inclusiones citoplasmáticas nucleares cuadradas y cristales hexagonales en el citoplasma en plantas de tomate y chile infectadas con TMV (Astier *et al.*, 2006). El TMV es transmitido por contacto ya sea en el trasplante o con el simple roce entre plantas enfermas y sanas, se mantiene en plantas de tabaco seco, es transmitido por áfidos y también se ha reportado su transmisión por semilla (Himmel, 2003; Pérez y Rico, 2004; Astier *et al.*, 2006).

Hojas afectadas por TMV presentan parches amarillos o verdes, las áreas amarillas pronto se secan y se afecta el desarrollo y rendimiento de las plantas, hojas y frutos se distorsionan y presentan un mosaico amarillo pálido; en plantas de *Nicotiana tabacum* var. *xanthi* se desarrollan lesiones locales y mosaico sistémico (Himmel, 2003; Astier *et al.*, 2006). Sainz y Ramírez (1991)

observaron un síntoma de mosaico en plantas de tomate de cáscara en Yurécuaro Michoacán, cuyo origen atribuyeron a TMV aunque no realizaron las pruebas necesarias para confirmarlo.

2.5 Técnicas de detección e identificación de virus fitopatógenos

En la actualidad la demanda de producción de material vegetal sano es cada vez más grande. Este principio se basa en elegir plantas sanas libres de enfermedades virales, las cuales servirán de material inicial para posteriormente multiplicarlas en condiciones que permitan conservar su estado sanitario. Es por esto que los métodos de diagnóstico pueden utilizarse para identificar el agente causal responsable de una enfermedad y así elegir el método más apropiado para su manejo, o para la detección, que solo se utiliza para reconocer la presencia o ausencia de algún virus fitopatógeno, sin embargo la utilización de ambos no se puede separar (Negrete *et al.*, 2014).

Existen diferentes técnicas para la identificación de virus. Algunas de ellas son la identificación por síntomas, pruebas fisiológicas en plantas indicadoras, pruebas de biología molecular y serológicas. Algunas de las técnicas mencionadas no son tan confiables, tal es el caso de la identificación por sintomatología debido a que los síntomas son fácilmente confundidos con desordenes nutricionales o con daños ocasionados por herbicidas; por el contrario, las técnicas serológicas como ELISA y las moleculares como RT-PCR y PCR-MULTIPLEX son más confiables debido a su alta sensibilidad (Robles-Hernández *et al.*, 2010).

Ensayo Inmunoadsorbente Ligado a una Enzima (ELISA)

De acuerdo a Cruz y Frías (1997) la prueba de ELISA es un método confiable para la detección de virus fitopatógenos, debido a que detecta cantidades muy pequeñas de estos agentes en los diferentes órganos de las plantas enfermas.

La importancia del uso de esta técnica radica en la sensibilidad, ya que permite detectar la presencia de patógenos de importancia en especies o variedades de plantas que posean resistencia o tolerancia aun cuando no se presenten síntomas. Se han desarrollado algunas variantes de la técnica ELISA para aumentar su precisión, dichas variantes permiten desde la cuantificación de un antígeno en solución hasta la detección de un anticuerpo en una solución (Reina, 2003).

Una de las variantes es la técnica ELISA directo, que consiste en la adsorción de anticuerpos específicos a una placa de poliestireno seguida de la adición del antígeno reaccionando entre sí. Posteriormente se agregan anticuerpos ligados con enzimas, los cuales se adhieren al antígeno capturado en la placa formando una secuencia biológica de anticuerpo-antígeno-anticuerpo ligado a una enzima; una vez formada la secuencia se adiciona el sustrato, el cual se hidroliza por la enzima produciendo un cambio de color de la solución, esto permite determinar los resultados visualmente y cuantificarlos con el lector de placas por medio del espectrofotómetro presente en el lector (Cultek, 2006).

DAS-ELISA es otra técnica utilizada más comúnmente para la detección de virus fitopatógenos, es un tipo de ELISA-directo y se le conoce como ELISA tipo sándwich. Dicha técnica consiste en la adsorción de anticuerpos específico a las placas de poliestireno seguida de la adición de antígenos los cuales

reaccionan con los anticuerpos previamente adsorbidos en la placa, es muy similar a la técnica antes descrita. Se agregan nuevamente anticuerpos ligados a enzimas que se adhieren a los antígenos para formar el sándwich, posteriormente se adiciona un sustrato el cual es hidrolizado por efecto de la enzima provocando un cambio en la coloración, lo cual permite determinar visualmente los resultados y cuantificarlos con el lector de placas (Cruz y Frías, 1997).

2.6 Resistencia de las plantas a virus

De acuerdo a Harrison (1987) existen tres principales medidas de control que han sido aplicadas en la prevención de enfermedades virales y pérdidas en la producción, dichas medidas son:

- 1) Remoción de las fuentes proveedoras de virus.
- 2) Prevención para evitar la dispersión del virus.
- 3) Desarrollo de variedades resistentes a virus.

El fenómeno de la resistencia de las plantas a enfermedades es considerado como el método más efectivo para la protección de cultivos, debido principalmente a lo difícil que es el control y manejo de las enfermedades virales y sus vectores. Algunos autores como Matthews (1992) y Watterson (1993) mencionan tres componentes esenciales para el manejo exitoso de un programa de resistencia a virus: 1) la resistencia debe ser heredable a las generaciones siguientes; 2) el virus aislado debe ser tan puro y representativo como el que originalmente se aisló en campo; y 3) se debe establecer una

metodología exacta y altamente eficiente de discriminación para el muestreo de poblaciones segregantes.

Existe una variada gama literaria de agrupamiento de los tipos de resistencia dependiendo de los autores. Fraser (1987) agrupa los tipos de resistencia de la manera siguiente: a) resistencia por total inmunidad de las especies al ataque de virus; b) resistencia de una especie en particular a uno o más virus; y c) resistencia inducida. Otra clasificación es la planteada por Matthews (1992) quien cita los siguientes tipos de respuesta de las plantas a la inoculación con un virus determinado: 1) plantas inmunes, aquellas donde no se lleva a cabo la replicación del virus en el protoplasto de células de plantas ni en las células inicialmente inoculadas, el virus inoculado puede ser encapsulado y no se produce descendencia del genoma viral; 2) hospederos resistentes, en los cuales el virus puede infectar y replicarse en el protoplasto, sin embargo la multiplicación del virus queda limitada a las células inicialmente infectadas provocando una típica lesión necrótica local; c) hospederos susceptibles, existe replicación y movimiento sistémico del virus, las plantas infectadas manifiestan más o menos severidad de la enfermedad y en algunos casos no se produce efecto aparente sobre la planta dando lugar a una infección latente. Harrison (1987) agrupa los tipos de resistencia en dos categorías que son: resistencia innata y resistencia inducida.

Resistencia innata

Cuando por factores intrínsecos uno o más individuos de una especie son capaces de contrarrestar por si mismos la infección de un virus en particular.

Las plantas no desarrollan síntomas detectables e incluso puede o no haber replicación del virus. En esta respuesta están implicados uno o más genes, que pueden tener o no un efecto aditivo, que inhiben o limitan el movimiento o multiplicación del virus y permiten heredar esta característica a las generaciones posteriores (Harrison, 1987).

Resistencia inducida

Opera a nivel individual, es conferida a una planta susceptible por medio de una inoculación previa con una variante atenuada de un determinado virus, ya sea por medio de tratamientos químicos o por del manejo de factores físicos. No es heredable por lo que debe ser incorporada a cada generación de individuos. Los mecanismos por los que se manifiesta este tipo de resistencia son variados, dependen de los genes responsables en cada cultivar hospedero y de los efectos indirectos probables provocados en el metabolismo de la planta (Fraser, 1987; Harrison, 1987).

Respuesta hipersensible de la planta

Esta respuesta es muy común en plantas que son sometidas a la infección con parásitos avirulentos, es decir a plantas con resistencia inducida. En la reacción de hipersensibilidad las células infectadas y las más próximas a estas mueren rápidamente formando un área necrótica delimitada que evita la dispersión o el movimiento del virus, siempre que éste requiere células vivas para poder multiplicarse. Dicha reacción también se asocia con la iniciación de una o más reacciones defensivas dentro de la planta (Fritting *et al.*, 1987; Strange, 1993).

La respuesta de hipersensibilidad en las plantas es uno de los mecanismos naturales más eficientes de defensa que es inducida por la misma infección del virus, dicho mecanismo presenta dos niveles sucesivos de señales de reconocimiento seguidos por la inducción de alteraciones metabólicas responsables de la resistencia. Algunos estudios basados en análisis genéticos de la interacción planta-patógeno muestran que la defensa activa relacionada con la incompatibilidad está controlada por un solo gene del hospedero en la mayoría de los casos, dicho gene es el gene de resistencia.

Una interacción producida entre un gene parásito llamado “gen avirulento”, el cual podría ser el gen resistente, y algún otro gene del patógeno podría desencadenar la respuesta de hipersensibilidad, la cual es acompañada por un estrés de la planta y otras alteraciones metabólicas. Algunas de las alteraciones metabólicas que confieren resistencia a las plantas son: la producción de enzimas hidrolíticas (quitinasas y gluconasas), producción de inhibidores de proteasas y poligalacturonasas, producción de proteínas relacionadas con la patogénesis, producción de enzimas responsables de la biosíntesis de etileno, producción de enzimas involucradas en la biosíntesis de fitoalexinas, producción de enzimas del metabolismo de ácidos aromáticos, producción de enzimas oxidativas (polifenol-oxidasas y peroxidasas), “la síntesis del complejo proteínico hidroxiprolina y glicoproteínas” y “la síntesis de enzimas involucradas en la producción de lignina, suberina, polímeros fenólicos, polisacáridos y deposiciones de callosidades” (Fritting *et al.*, 1987; Matthews, 1992; Strange, 1993).

Resistencia adquirida

La mayoría de los patógenos que inducen reacciones de hipersensibilidad confieren protección contra el mismo agente infeccioso u otros. Strange (1993) menciona que esta propiedad puede estar confinada sólo a la proximidad del sitio primario de inoculación, conocida como resistencia adquirida local, o de manera sistémica en toda la planta llamada resistencia adquirida sistémica.

Variabilidad en tomate de cáscara

De acuerdo con Pérez *et al.* (1997) la variabilidad en tomate de cáscara se ha agrupado en ocho razas principales: Silvestre, Milpero, Arandas, Tamazula, Manzano, Rendidora, Salamanca y Puebla; las últimas siete razas son autoincompatibles en tanto que en la raza silvestre existen variedades autofértiles. La Universidad Autónoma Chapingo cuenta con un el Banco de Germoplasma de Especies Nativas, el cual posee una gran cantidad de colectas de materiales silvestres y cultivados de tomate de cáscara, dichas colectas se realizaron siguiendo cuatro rutas: 1) occidente (Jal., Col., Nay.), 2) Bajío (Gto., Mich.), 3) Centro (Pue., Tlax., Hgo., Qro., Méx.) 4) Sur (Mor., Gro., Oax.). Los materiales colectados se encontraron en su mayoría de los grupos climáticos presentes en México, debido a que se colectaron desde los 750 a 2450 msnm, aunque la especie *Physalis angulata* se encuentra a una altitud de 5 msnm y *Physalis orizabae* a 3350 (Santiaguillo *et al.*, 1994). Fernández (1995) reporta que los materiales 02JAL02, 73JAL20 y 26MICH12 (todos los tipo Tamazula) presentaron el menor porcentaje de daño de virus, sugiriendo reevaluar los materiales para confirmar las posibles fuentes de resistencia.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización del experimento

El presente trabajo de investigación se realizó en el periodo de febrero a junio de 2015 en el invernadero de la Academia de Genética del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo y en el Laboratorio de Virus del Departamento de Parasitología Agrícola de la misma universidad, ubicada en la Carretera México-Texcoco Km 38.5, en Texcoco, Estado de México, en las coordenadas geográficas 19°49' LN y 98°87' LW y a una altitud de 2,250 metros sobre el nivel del mar.

3.2 Factores de estudio

Se estudiaron dos factores. El primero fueron las accesiones, al que correspondieron ciento ochenta materiales de tomate de cáscara colectados en la República Mexicana y conservados en el Banco de Germoplasma de Especies Nativas del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo (Santiaguillo *et al.*, 1994; Santiaguillo *et al.*, 2012). Es importante mencionar que treinta de las ciento ochenta accesiones estudiadas se descartaron por su mala germinación (Cuadro 1), por lo que se recomienda renovar la semilla de dichos materiales. La siembra se realizó en charolas germinadoras de doscientas cavidades, una accesión por hilera dejando un hilera sin sembrar, en total 10 accesiones por charola y 10 plantas por accesión (100 plántulas por charola en total). Se utilizó pet-moss como sustrato.

Cuadro 1. Relación de accesiones de *Physalis spp.* descartadas por escasa germinación.

NA	Descripción	NA	Descripción
4	01 MICH 09	91	108 BANGEN
13	165 BANGEN	100	185 BANGEN
17	166 BANGEN	103	168 BANGEN
19	20 BANGEN	107	04 BANGEN
37	102 BANGEN	123	JAL 104
40	57 BANGEN	128	77 BANGEN
44	41 BANGEN	130	111 BANGEN
46	80 BANGEN	140	84 BANGEN
50	51 BANGEN	148	186 BANGEN
58	HIDALGO 2009	149	107 BANGEN
60	198 BANGEN	150	187 BANGEN
61	177 BANGEN	151	125 BANGEN
72	151 BANGEN	166	26 BANGEN
84	MEX 101	169	30 BANGEN
85	87 BANGEN	172	167 BANGEN

NA: Número de accesión progresivo de las colectas estudiadas.

El segundo fue el factor virus: Virus Jaspeado del Tabaco (Tobacco Etch Virus, TEV), Virus Mosaico del Pepino (Cucumber Mosaic Virus, CMV), Virus Mosaico de la Alfalfa (Alfalfa Mosaic Virus, AMV), Virus de la Marchitez Manchada del Tomate (Tomato Spotted Wilt Virus, TSWV), Virus Mosaico del Tabaco (Tobacco Mosaic Virus, TMV) solos y se emplearon como testigos plántulas sanas a las que se les inoculó solución buffer sin solución viral.

3.3 Fertilización y manejo de plántulas

Se tuvo un estricto manejo y fertilización de las plántulas, tomando en cuenta las sugerencias de Sánchez y Escalante (1989) y Rosas (1999). Se aplicó solución nutritiva de Steiner cada tercer día a una concentración de 50 %

durante las primeras dos semanas; posteriormente se realizaron riegos diariamente con una solución nutritiva al 100 % hasta que finalizó el estudio.

3.4 Diseño de tratamientos

Con el propósito de determinar accesiones con posible resistencia a cinco de los virus que atacan al tomate de cáscara, se realizó un diseño factorial completo, producto de la combinación de las 150 accesiones (Cuadro 2) con los cinco virus más el tratamiento testigo, generándose 900 tratamientos. El diseño experimental fue bloques completos al azar con tres repeticiones, del cual resultaron 2700 unidades experimentales. Cada unidad experimental se constituyó de 10 plántulas.

La relación completa de tratamiento para cada una de las 150 accesiones es la siguiente:

T1= Virus mosaico de la alfalfa (AMV)

T2= Virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV)

T3= Virus mosaico del pepino (CMV)

T4= Testigo

T5= Virus jaspeado del tabaco (TEV)

T6= Virus mosaico del tabaco (TMV)

Cuadro 2. Relación de accesiones de *Physalis spp.* utilizados en la investigación.

NA	Descripción	NA	Descripción	NA	Descripción	NA	Descripción
1	14 BNGEN	47	45 BNGEN	93	36 BNGEN	137	PUE 207
2	JM 2013 04	48	MICH BNGEN	94	155 BNGEN	138	TECOZAUTLA
3	SAN 09	49	140 BNGEN	95	132 BNGEN	139	PUE 210
5	82 BNGEN	51	131 BNGEN	96	129 BNGEN	141	MICH 201
6	127 BNGEN	52	MICH 204	97	72 BNGEN	142	159 BNGEN
7	78 BNGEN	53	123 BNGEN	98	DIAMANTE	143	110 BNGEN
8	63 BNGEN	54	194 BNGEN	99	152 BNGEN	144	179 BNGEN
9	38 BNGEN	55	148 BNGEN	101	98 BNGEN	145	PUE 203
10	61 BNGEN	56	88 BNGEN	102	49 BNGEN	146	85 BNGEN
11	173 BNGEN	57	156 BNGEN	104	46 BNGEN	147	201 BNGEN
12	JAL 103	59	164 BNGEN	105	93 BNGEN	152	52 BNGEN
14	184 BNGEN	62	71 BNGEN	106	209 BNGEN	153	02 BNGEN
15	128 BNGEN	63	176 BNGEN	108	VER 102	154	35 BNGEN
16	180 BNGEN	64	147 BNGEN	109	146 BNGEN	155	70 BNGEN
18	32 BNGEN	65	190 BNGEN	110	130 BNGEN	156	JM 2013 05
20	100 BNGEN	66	VER 101	111	17 BNGEN	157	66 BNGEN
21	POBLACIÓN 3	67	117 BNGEN	112	120 BNGEN	158	PUE 205
22	73 BNGEN	68	54 BNGEN	113	16 BNGEN	159	29 BNGEN
23	8 BNGEN	69	2 BNGEN	114	91 BNGEN	160	112 BNGEN
24	144 BNGEN	70	JM 2013 03	115	202 BNGEN	161	SAN 08
25	PUE 202	71	24 BNGEN	116	124 BNGEN	162	174 BNGEN
26	48 BNGEN	73	44 BNGEN	117	JM 2013 06	163	137 BNGEN
27	193 BNGEN	74	183 BNGEN	118	105 BNGEN	164	PUE 204
28	172 BNGEN	75	64 BNGEN	119	06 BNGEN	165	34 BNGEN
29	90 BNGEN	76	103 BNGEN	120	97 BNGEN	167	96 BNGEN
30	SAN 07	77	89 BNGEN	121	12 BNGEN	168	10 BNGEN
31	GEMA	78	JAL 102	122	75 BNGEN	170	SAN 05
32	9 BNGEN	79	MANZANO	124	MOR 102	171	143 BNGEN
33	15 BNGEN	80	191 BNGEN	125	SAN 06	173	MORADO S.M.
34	39 BNGEN	81	MICH 301	126	158 BNGEN	174	160 BNGEN
35	170 BNGEN	82	PUE 201	127	76 BNGEN	175	139 BNGEN
36	59 BNGEN	83	175 BNGEN	129	157 BNGEN	176	VER 104
38	134 BNGEN	86	JM 2013 01	131	163 BNGEN	177	11 BNGEN
39	VERDE L.	87	181 BNGEN	132	JM 2013 02	178	92 BNGEN
41	104 BNGEN	88	PUE 206	133	JAL 01	179	182 BNGEN
42	136 BNGEN	89	99 BNGEN	134	25 BNGEN	180	PUEBLA SM 3
43	135 BNGEN	90	67 BNGEN	135	VER 103		
45	169 BNGEN	92	TH 2013 01	136	03 BNGEN		

NA: Número de accesión progresivo de *Physalis spp.*; BNGEN = Banco Nacional de Germoplasma de Especies Nativas de la UACH.

3.5 Inoculación

La inoculación se realizó el 9 de abril del 2015 cuando las plántulas tenían 32 días de haber sido sembradas y presentaban de cuatro a cinco hojas verdaderas. Se inoculó la segunda y tercera hoja considerada del ápice hacia la base. La inoculación fue de manera mecánica provocando pequeñas lesiones en las láminas foliares con la ayuda de carborundum y un isopo cubierto de solución vírica, frotando las hojas para provocar las lesiones y la inoculación al mismo tiempo. La solución vírica se obtuvo al macerar 1g de tejido vegetal infectado por cada 10 ml de solución amortiguadora (1×10^{10}) (De la Torre *et al.*, 2002).

La fuente de inóculo para cada virus fue diferente: para el caso del TMV y TEV fue *Nicotiana tabacum* var. *xanthi*, para TSWV se utilizó *Datura stramonium*, para CMV fue *Solanum lycopersicum* y para el virus AMV se utilizó *Chenopodium amaranticolor*. Para la obtención de la solución infectiva se utilizó la solución amortiguadora o buffer de extracción a base de fosfatos previamente elaborada en el laboratorio de virología del Departamento de Parasitología Agrícola, con un pH=7.

El proceso de inoculación fue el mismo para todos los virus debido a que los cinco se transmiten de manera mecánica.

- a) De plantas infectadas con los virus respectivos, se tomó 1g de material vegetal infectado y se le adicionó 10 ml de solución amortiguadora o buffer de extracción, se maceró hasta obtener un extracto infectivo, se preparó con esa relación las veces necesarias para inocular todas las plantas de estudio.

- b) Las hojas se asperjaron con carborundum previamente a la inoculación, cuidando de no aplicarlo en exceso.
- c) Utilizando isopos y bolsas transparentes de laboratorio para contener la solución vírica se inoculó frotando el isopo, previamente empapado en el extracto infectivo, con la superficie de las hojas asperjadas con carborundum de manera suave y en una sola dirección para evitar daños excesivos en las hojas.
- d) Finalmente se lavó el follaje de las plántulas con agua de la llave para eliminar los residuos de carborundum que pudieran contener las mismas.

3.6 Variables evaluadas

3.6.1 Síntomas

Para determinar los síntomas se realizaron observaciones visuales constantes después de la inoculación para detectar los diferentes síntomas que cada virus induce como son: lesiones locales o sistémicas, cloróticas o necróticas, enchinamiento, mosaico, moteados, manchas anulares, deformaciones, cálicos, entre otros.

3.6.2 Severidad

Para calcular la severidad se creó una escala visual a la cual se le asignaron valores del 1 al 5, donde 1 significa sin daño aparente o 0 %, 2 significa 25 % de daño, 3 es igual a 50 % de daño, 4 es igual a 75 % y por consecuente 5 es equivalente a daño severo, expresado como inhibición o distorsión del crecimiento, o muerte de la planta. Se realizaron dos muestreos, el primero a

los 15 días después de la inoculación y el segundo a los 30 días posteriores. Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza y a una prueba de Tukey con un $P = 0.05$.

3.6.3 Incidencia

La incidencia se obtuvo observando y registrando el número de plantas infectadas por accesión de *Physalis spp.* Se contaron un total de 10 plántulas que conformaron la unidad experimental, tomando como valores 1 = 10 % y 10 = 100 %. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza y a una prueba de Tukey con un $P = 0.05$.

3.6.4 Altura de plántula (cm)

La altura inicial de cada accesión de *Physalis spp.* se midió un día antes de establecer los tratamientos e inocularlos con cada virus, midiéndose desde la superficie del sustrato hasta la punta de la rama más alta. Se realizaron tres muestreos de altura durante el experimento debido a que el estudio se realizó a nivel de plántula. Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza y a una prueba de comparación de medias de Tukey con un $P = 0.05$.

3.6.5 Número de hojas

Esta variable se midió un día antes de establecer los tratamientos e inocular dichos tratamientos con los diferentes patógenos estudiados en cada accesión de *Physalis spp.* Para la toma de datos de esta variable se tomaron en cuenta solo las hojas completamente formadas que mostraron lámina, peciolo, nudo,

entrenado y yema axilar (Magdaleno-Villar *et al.*, 2006) midiendo solo las hojas que presentaban más de 1 cm² de tamaño. Se realizaron tres muestreos semanalmente y los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza y a una comparación de medias con la prueba Tukey con un $P = 0.05$.

3.7 Prueba de ELISA

La detección de diferentes tipos de virus se realizó con el ensayo serológico ligado a enzimas en doble sandwich (DAS-ELISA) en dos días, en todas las muestras compuestas. Las muestras compuestas se constituyeron de coleccionar dos hojas de cada planta de cada unidad experimental, las cuales se mezclaron con las hojas coleccionadas de la misma manera en cada repetición. Dicha muestra se maceró y utilizó el extracto para la realización de las pruebas. Se utilizaron antisueros policlonales específicos comerciales para la detección de los virus utilizados en el estudio (TSWV, CMV, TMV, AMV, TRSV y TEV). Los antisueros y procedimientos se adquirieron de la empresa FUMAPLANT provenientes de Agdia Co. La absorbancia de las posibles reacciones antígeno anticuerpo se registraron en un Microlector con filtro de 492 nm, presente en el laboratorio de virología del Departamento de Parasitología Agrícola. Se realizaron dos lecturas, la primera alrededor de 10 minutos después de la adición del sustrato y la segunda 20-30 minutos después de la primera lectura. La reacción positiva se consideró si la absorbancia de cada virus superó el promedio de los blancos multiplicado por tres o superior a la lectura de los testigos positivos incluidos en cada antisuero de cada placa presente en el equipo de detección serológica (Cruz y Frías, 1997).

3.8 Diseño experimental

Para este estudio la unidad experimental consistió en 10 plántulas de cada accesión estudiada, las cuales ocuparon 10 cavidades de cada charola germinadora. Se colocaron 10 accesiones por charola de tal manera que en total se tuvieron 100 plántulas dejando una hilera entre accesiones. El diseño experimental empleado fue bloques completos al azar con tres repeticiones. Los factores de estudio fueron a) Factor virus con seis niveles (cinco virus y un tratamiento testigo, inoculado con solución amortiguadora o buffer de extracción) y b) Factor accesión con 180 niveles niveles iniciales y 150 finales (cada nivel correspondió a cada accesión de *Physalis spp.*).

3.9 Análisis estadístico

El análisis de los datos obtenidos en las variables Número de Hojas (NH), Altura de planta (AL), Incidencia (IN) y Severidad (SE) se hizo con un análisis de varianza y para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey con 5 % de significancia. Se realizaron análisis estadísticos en los caracteres evaluados de acuerdo al diseño de tratamientos factorial completo 150 X 6 y al diseño experimental de bloques completamente al azar, para lo cual se usó el programa estadístico SAS versión 9.0 (SAS Institute Inc., USA).

3.10 Modelo lineal de análisis de varianza factorial completo

$$Y_{ijk} = \mu + V_i + A_j + (VA)_{ij} + e_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = Respuesta obtenida en la k-ésima repetición de la i-ésimo virus, de la j-ésima accesión.

μ = Efecto medio general.

V_i = Efecto atribuido a i-ésimo nivel del factor virus.

A_j = Efecto atribuido a j-ésimo nivel del factor accesión.

$(VA)_{ij}$ = Efecto atribuido a la interacción entre el i-ésimo nivel del factor virus y el j-ésimo nivel del factor accesión .

e_{ijk} = Error aleatorio correspondiente a Y_{ijk} .

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Efecto general de los tratamientos aplicados a *Physalis spp.*

4.1.1 Síntomas inducidos por AMV

Los síntomas inducidos por AMV en las hojas inoculadas de *Physalis* fueron evidentes a los 20 días después de la inoculación, presentando diferentes síntomas dependiendo de las accesiones. Los síntomas que se observaron fueron deformación de hojas, moteado y mosaico amarillo; dichos síntomas coinciden con los reportados por De la Torre *et al.* (2003), aunque es importante mencionar que algunas de las accesiones se comportaron de manera diferente en cada repetición.

4.1.2 Síntomas inducidos por TSWV

A los 19 días después de ser inoculado el virus TSWV, en algunas de las accesiones se presentaron manchas blancas que posteriormente se tornaron necróticas, necrosis en folíolos y deformación de los puntos apicales, y muerte descendente de los folíolos. Síntomas similares reporta Pérez y Rico (2004) en plantas de chile y tomate. No se observaron lesiones locales en las hojas inoculadas pero sí necrosis como síntomas sistémico, como lo mencionan De la Torre *et al.* (2002). Las accesiones se comportaron de manera diferente en cada repetición. Aproximadamente un 25 % de las accesiones estudiadas no presentó sintomatología.

4.1.3 Síntomas inducidos por CMV

Los síntomas se presentaron en diferente grado a los 22 días después de la inoculación. Se observó un mosaico amarillo irregular, amarillamiento intervenal en la lámina foliar y necrosis en los puntos apicales (Murphy, 2003; Pérez y Rico, 2004). La presencia de síntomas en cada repetición fue muy variada; muchas de las accesiones que presentaron sintomatología severa en una repetición la presentaron en menor grado en las demás repeticiones.

4.1.4 Síntomas inducidos por TEV

El virus TEV presentó sintomatología en casi todas las accesiones estudiadas a excepción de seis materiales. El comportamiento de la sintomatología varió mucho en cada repetición; por ejemplo, en la repetición tres la accesión 26 no presentó sintomatología mientras que en las demás repeticiones si presentó en bajo porcentaje. Los síntomas más comunes observados en el tratamiento con el virus TEV fueron deformación de las hojas apicales, achaparramiento, mosaicos, necrosis, blanqueamiento intervenal y muerte de la planta. Los síntomas son similares a los reportados por Reddick (2003) en el cultivo de chile.

4.1.5 Síntomas inducidos por TMV

Los síntomas inducidos por TMV en las hojas inoculadas de *Physalis* fueron evidentes a los cuatro días después de la inoculación, presentando lesiones locales y posteriormente la caída de dichas hojas. Todas las accesiones evaluadas presentaron este síntoma. Los síntomas sistémicos se observaron a

los 20 días después de la inoculación, presentándose en las hojas jóvenes y brotes con diferentes tipos de síntomas como deformación, mosaico, enchinamiento, necrosis, blanqueamiento intervenal, cálico, quimera, manchas anulares y necrosis.

Himmel (2003) reporta que el TMV provoca mosaicos en Chile. Cabe mencionar que este tratamiento, al igual que el tratamiento con TEV, fueron los más severos en cuanto a sintomatología ya que muchas de las accesiones murieron por efecto de estos virus, obteniendo así el 100 % de severidad en dichas accesiones.

4.1.6 Escala visual para la evaluación de la sintomatología

Para la evaluación de las variables incidencia (IN) y severidad (SE) de acuerdo a la sintomatología se procedió a realizar una escala logarítmica visual de síntomas en cada uno de los virus estudiados. La escala tuvo los siguientes valores: 1 = 0 %, 2 = 25 %, 3 = 50 %, 4 = 75 %, 5 = 100 %. El valor 1 (0 %) era sin síntomas presentes o planta aparentemente sana, y el valor 5 (100 %) correspondió a plantas muertas o con los puntos de crecimiento muertos. Esta escala tiene la ventaja de tener valores porcentuales directos y de considerar el crecimiento logarítmico de la enfermedad (Bautista *et al.*, 2009) de una manera visual (Figuras 1, 2, 3, 4 y 5). En el caso de TMV se creó la escala para evaluar las lesiones locales muy características de este virus, que se presentan a los cuatro días después de la inoculación de dicho patógeno (Figura 6).

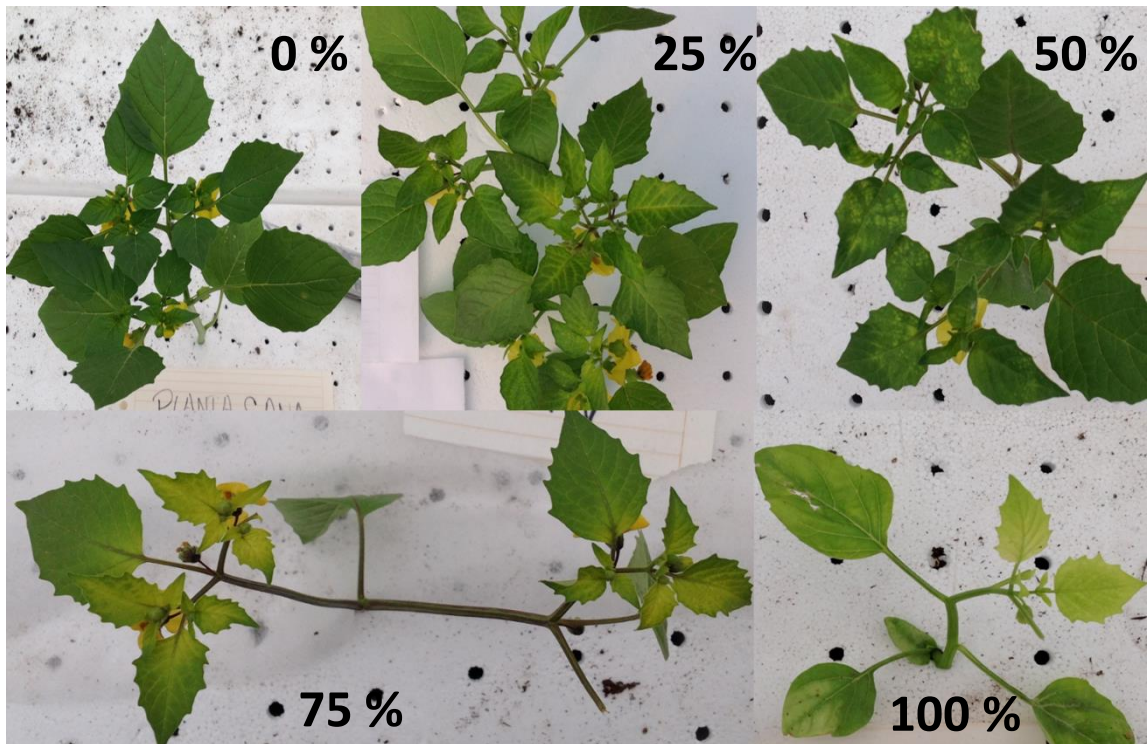


Figura 1. Escala visual de la sintomatología provocada por AMV en plántulas de tomate de cáscara (*Physalis spp.*) en porcentaje.

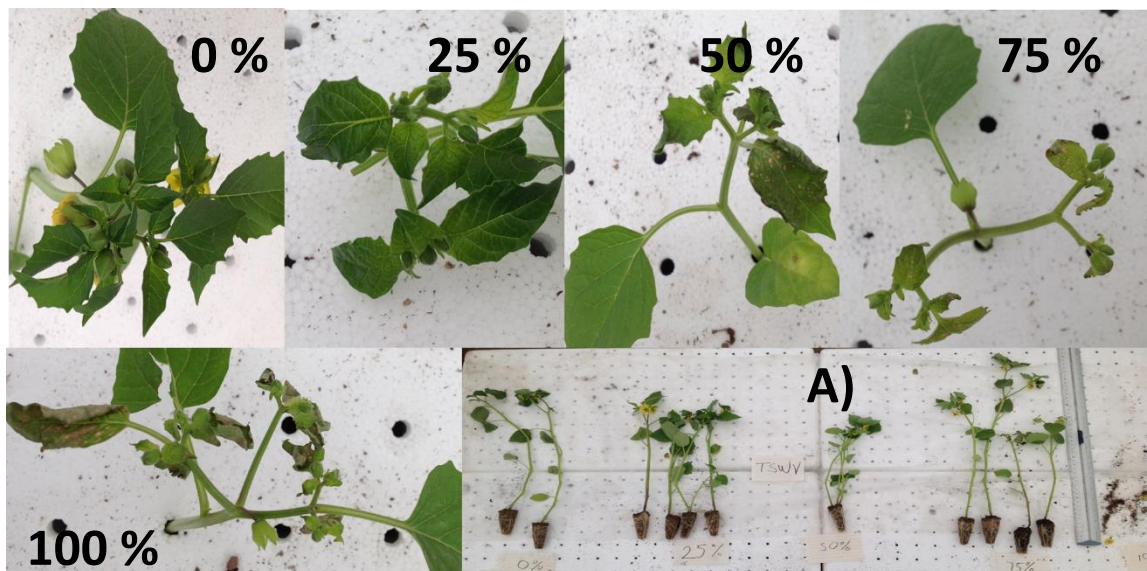


Figura 2. Escala visual de la sintomatología provocada por TSWV en plántulas de tomate de cáscara (*Physalis spp.*) en porcentaje. A) diferencia de alturas en cuanto a porcentajes de infección y síntomas causados por TSWV.

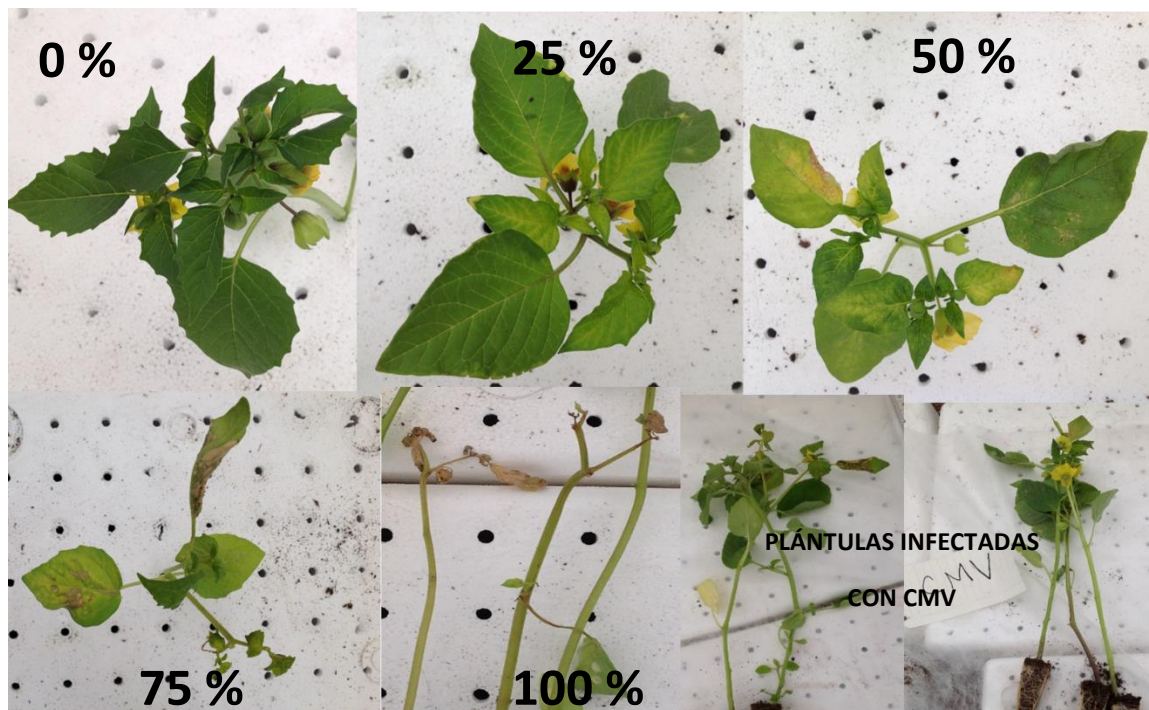


Figura 3. Escala visual de la sintomatología provocada por CMV en plántulas de tomate de cáscara (*Physalis spp.*) expresada en porcentaje y plántulas infectadas con CMV.

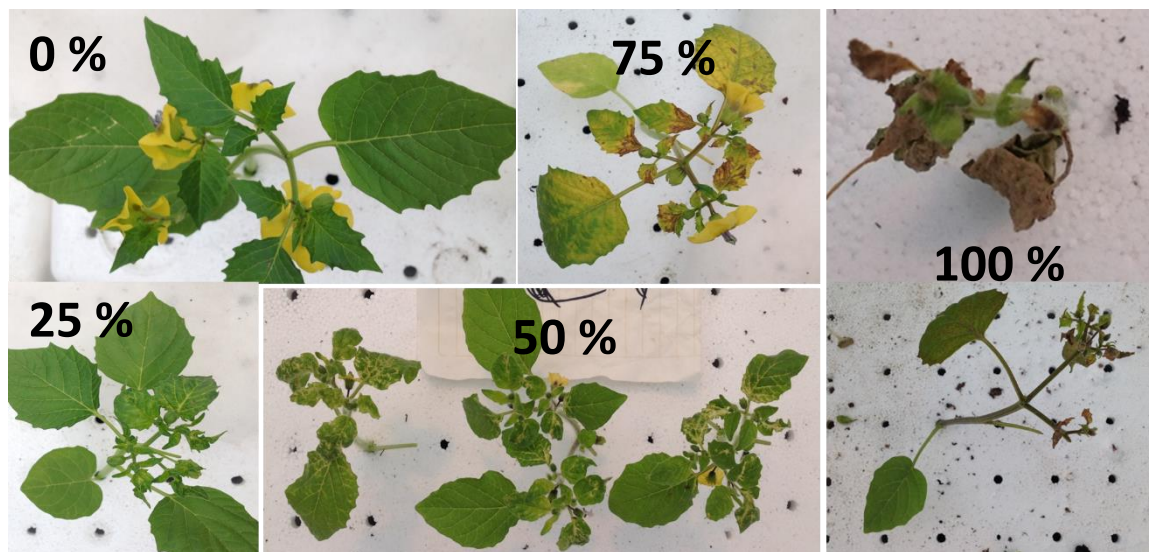


Figura 4. Escala visual de la sintomatología provocada por TEV en plántulas de tomate de cáscara (*Physalis spp.*) expresada en porcentaje.

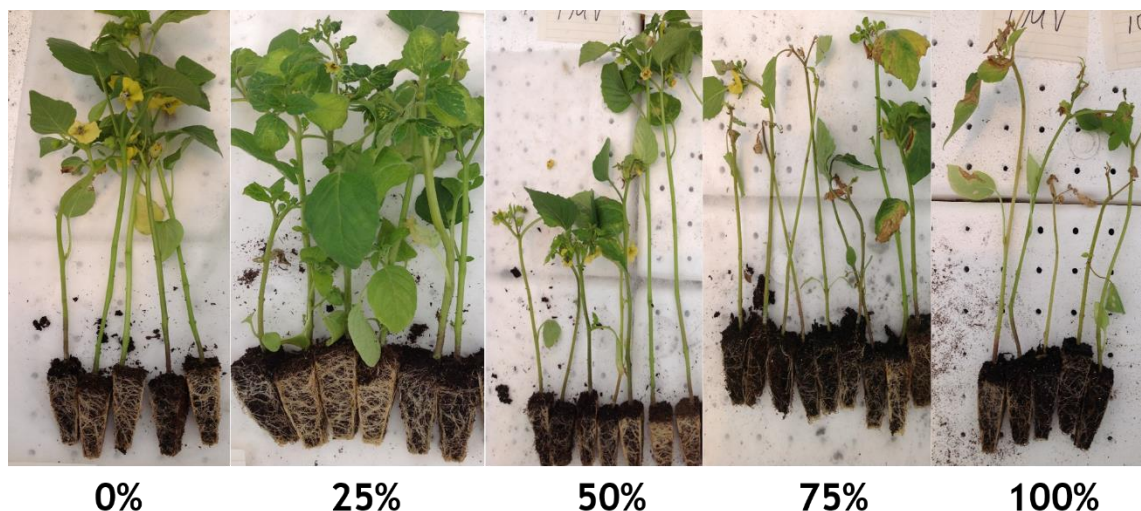


Figura 5. Escala visual de la sintomatología provocada por TMV en plántulas de tomate de cáscara (*Physalis spp.*) expresada en porcentaje.

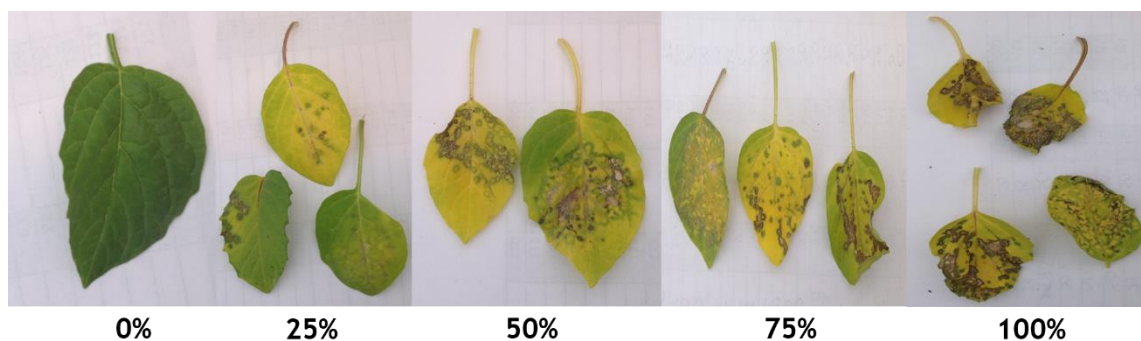


Figura 6. Escala visual en porcentaje de la sintomatología provocada por TMV en plántulas de tomate de cáscara (*Physalis spp.*) llamadas lesiones locales.

4.2 Análisis de varianza

Los resultados del análisis de varianza (Cuadro 3) muestran que los factores virus y accesión presentan significancia estadística para todas las variables, excepto NH1 para el factor virus. En el muestreo 1 y 2 de la variable número de hojas (NH1 Y NH3) no hubo significancia estadística con el factor Bloque. La interacción Accesión X Virus no mostró significancia en ninguna de las variables estudiadas. Los coeficientes de variación de las variables altura y número de

hojas indican que los resultados son confiables. Para el caso de incidencia y severidad son relativamente altos, aunque comparables con los reportados en trabajos similares (Rosas, 1999). Esto pudo deberse tanto a la diversidad genética de las accesiones evaluadas (150) como a la alogamia de la especie (Peña, 1998).

Cuadro 3. Análisis de varianza de cuatro variables medidas en 150 accesiones de tomate de cáscara (*Physalis spp.*) de acuerdo al comportamiento de cinco virus que afectan al cultivo.

FV	GL	A1	NH1	A2	NH2
Bloque	2	543.59 **	0.18	488.40 **	1.21
Accesión	149	40.92 **	0.85 **	127.57 **	2.06 **
Virus	5	61.00 **	0.12	217.93 **	6.06 **
Accesión*Virus	745	2.72	0.07	4.71	0.93
Error	1798	3.11	0.08	5.27	1.02
Total	2699				
CV		20.68	7.19	11.8919	19.84246

		A3	NH3	IN	SE
Bloque	2	1642.84 **	17.41 **	15300.26 **	2205.89 **
Accesión	149	120.32 **	3.26 **	663.30 **	158.72 **
Virus	5	1114.58 **	178.05 **	394953.85 **	75903.09 **
Accesión*Virus	745	6.77	1.04	311.82	65.52
Error	1798	7.57	1.35	365.73	62.97
Total	2699				
CV		9.22	14.90	56.35	63.17

** Significativo a una $p \leq 0.01$; FV: Factor de variación; GL: Grados de libertad; A1: Altura de planta del muestreo uno; A2: Altura de planta del muestreo dos; A3: Altura de planta del muestreo tres; NH1: Número de hojas en el muestreo uno; NH2: Número de hojas en el muestreo dos; NH3: Número de hojas en el muestreo tres; IN: Incidencia total; SE: Severidad total; CV: Coeficiente de Variación.

4.3 Pruebas de comparación de medias por factor

4.3.1 Factor accesiones

Altura de plántula

Los resultados de la comparación de medias de las accesiones muestran que las accesiones 38-170 (ALTURA 1), 164 - 114 (ALTURA 2) y 156 - 65 (ALTURA

3) son estadísticamente iguales en altura en el primero, segundo y tercer muestreos, respectivamente (Cuadro 4). Las accesiones 157 (66 BNGEN), 153 (02 BNGEN), 156 (JM 2013 05) y 154 (35 BNGEN) se comportaron de la misma manera en los tres muestreos, estuvieron entre las plantas más altas. Por el contrario, la altura más baja la presentaron las accesiones 52 (MICH 204) en el muestreo uno, la 172 (BNGEN) en el muestreo dos y la 81 (MICH 301) en el muestreo tres.

Número de hojas

La comparación de medias de la variable número de hojas entre muestreos (Cuadro 4) muestra que las accesiones 159 (29 BNGEN), 20 (100 BNGEN) y 141 (MICH 201) fueron las que presentaron mayor número de hojas en el primer muestreo, la accesión 8 (63 BNGEN) en el muestreo dos y la 159 (29 BNGEN) en el muestreo tres. La accesión 20 (100 BNGEN) se comportó de una buena manera ya que se mantuvo dentro de las accesiones que presentaron mayor número de hojas durante los tres muestreos, lo cual indica que su desarrollo fue normal y uniforme. La accesión que presentó menor número de hojas en los tres muestreos fue la 52 (MICH 204), lo cual puede deberse a que es una población tardía por ser silvestre. Esta variable permite saber, en general, si las plántulas tiene la edad suficiente para ser trasplantada, pero no puede considerarse como un indicador confiable ya que depende tanto de la edad como del genotipo (Magdaleno-Villar *et al.*, 2006).

Cuadro 4. Comparación de medias de altura de planta y número de hojas evaluadas en plántulas de tomate de cáscara (*Physalis spp.*) con respecto al factor accesión. Para cada variable solo se presenta el 10 % superior e inferior.

ALTURA 1		ALTURA 2		ALTURA 3		NH1		NH2		NH3	
NA.	Media	NA.	Media	Ac.	Media	Ac.	Media	Ac.	Media	Ac.	Media
38	11.6 a ^z	164	24.2 a	156	34.9 a	159	4.9 a	8	7.1 a	159	9.4 a
29	11.3 a	163	24.2 a	114	34.6 a	20	4.9 a	141	6.1 ab	141	9.0 ab
163	11.3 a	156	24.0 a	155	34.6 a	141	4.9 a	20	5.8 a-c	20	8.9 a-c
164	10.9 a	157	24.0 a	101	34.2 a	121	4.4 b	29	5.7 a-c	145	8.7 a-d
28	10.7 a	155	23.6 a	157	34.1 a	126	4.3 b	23	5.7 a-c	127	8.7 a-e
167	10.7 a	167	23.6 a	115	34.1 a	5	4.2 b	104	5.7 a-c	18	8.7 a-e
157	10.5 a	101	23.3 a	66	33.8 a	70	4.2 b	127	5.7 a-c	176	8.5 a-e
153	10.5 a	154	23.3 a	154	33.8 a	57	4.2 b	159	5.7 a-c	168	8.5 a-e
162	10.5 a	165	23.1 a	116	33.6 a	153	4.1 b	167	5.6 a-c	129	8.5 a-e
125	10.5 a	115	23.0 a	137	33.4 a	104	4.1 b	2	5.5 bc	59	8.4 a-e
30	10.4 a	162	22.9 a	108	33.4 a	82	4.1 b	170	5.5 bc	39	8.4 a-e
165	10.4 a	116	22.7 a	67	33.2 a	167	4.1 b	163	5.5 bc	136	8.4 a-e
24	10.3 a	158	22.7 a	135	33.2 a	112	4.1 b	121	5.5 bc	163	8.4 a-e
156	10.3 a	153	22.5 a	143	33.1 a	142	4.1 b	49	5.4 bc	167	8.4 a-e
23	10.3 a	68	22.4 a	144	33.1 a	71	4.1 b	18	5.4 bc	104	8.4 a-e
94	6.3 b	26	15.8 b	82	26.2 b	12	3.8 cd	41	4.7 bc	34	7.3 b-f
131	6.3 b	20	15.5 bc	3	26.2 b	131	3.8 cd	118	4.7 bc	43	7.2 c-f
111	6.1 b	9	15.4 bc	71	26.1 b	66	3.8 cd	114	4.7 bc	108	7.2 c-f
12	6.1 b	11	15.2 b-d	11	25.9 b	93	3.8 cd	93	4.7 bc	9	7.2 c-f
9	6.0 b-c	41	15.0 b-d	12	25.9 b	48	3.8 cd	14	4.7 bc	7	7.2 c-f
48	5.4 b-c	31	14.9 b-d	52	25.8 b	81	3.8 cd	108	4.6 bc	81	7.2 d-f
121	5.1 b-c	35	14.7 b-e	32	25.8 b	108	3.7 c-e	119	4.6 bc	12	7.1 d-f
45	5.1 b-c	121	14.7 b-e	10	25.7 b	139	3.7 c-f	12	4.6 bc	35	7.1 d-f
8	5.0 b-c	12	14.4 b-e	9	25.7 b	35	3.6 c-f	35	4.6 bc	74	7.1 d-f
81	4.9 b-c	45	14.2 b-e	31	25.4 bc	45	3.5 c-f	66	4.6 bc	65	7.1 d-f
26	4.9 b-c	8	14.1 b-e	172	25.1 bc	26	3.4 d-f	172	4.6 bc	41	7.1 d-f
172	4.7 b-c	32	12.2 c-e	8	24.8 bc	8	3.4 d-f	137	4.4 c	172	7.1 d-f
32	4.5 b-c	52	12.1 c-e	20	24.3 bc	9	3.3 ef	139	4.4 c	31	7.0 d-f
35	4.2 b-c	81	11.9 de	1	24.1 bc	172	3.3 f	45	4.4 c	8	6.9 ef
52	3.4 c	172	11.4 e	81	21.4 c	52	2.8 g	52	4.3 c	52	6.5 f
DMSH	2.6		3.4		4.1		0.4		1.5		1.7

^zMedias con la misma letra dentro de columnas son iguales (Tukey, $P = 0.05$); NA: Número de accesiones; ALTURA 1: Altura de planta en el muestreo uno; ALTURA 2: Altura de planta en el muestreo dos; ALTURA 3: Altura de planta en el muestreo 3; NH1, NH2, NH3: Número de hojas en el muestreo 1, 2 y 3 respectivamente; DMSH: Diferencia Mínima Significativa Honesta.

Incidencia y severidad

Los resultados de la comparación de medias (Cuadro 5) muestran que la accesión con mayor incidencia fue la 159 (29 BNGEN) con la media más alta, lo cual indica que fue la accesión que presentó mayor cantidad de plantas con sintomatología de virosis.

Cuadro 5. Comparación de medias de Incidencia y Severidad evaluadas en plántulas de tomate de cáscara (*Physalis spp.*) en los diferentes tratamientos con respecto a las accesiones.

Incidencia						Severidad					
Accesión	Media ^x		Accesión	Media ^y		Accesión	Media ^x		Accesión	Media ^y	
159	53.333	a ^z	28	26.667	a-c	141	22.739	a	57	9.444	c-e
20	50.556	ab	25	26.528	a-c	159	22.361	ab	10	9.398	c-e
141	49.456	a-c	22	26.411	a-c	20	20.417	a-c	28	9.306	c-e
129	46.667	a-c	153	26.389	a-c	120	19.537	a-d	153	9.271	c-e
139	45.733	a-c	30	26.172	a-c	139	19.073	a-e	25	9.216	c-e
98	45	a-c	23	26.111	a-c	129	18.056	a-e	152	9.167	c-e
88	44.567	a-c	11	26.111	a-c	124	18.056	a-e	69	9.167	c-e
145	43.333	a-c	63	25.878	a-c	81	17.778	a-e	96	9.028	c-e
117	43.333	a-c	10	25.556	a-c	32	17.222	a-e	71	8.935	c-e
81	43.333	a-c	66	25.556	a-c	88	16.991	a-e	33	8.769	c-e
32	43.333	a-c	101	25.556	a-c	146	16.944	a-e	63	8.727	c-e
120	43.206	a-c	33	25.35	a-c	137	16.918	a-e	104	8.611	c-e
146	41.667	a-c	152	25	a-c	9	16.706	a-e	101	8.611	c-e
124	41.667	a-c	38	23.95	bc	147	16.667	a-e	67	8.379	de
9	41.267	a-c	14	23.333	bc	127	16.528	a-e	66	8.333	de
170	41.233	a-c	34	23.267	bc	138	16.528	a-e	22	8.302	de
108	41.228	a-c	55	22.778	bc	108	16.419	a-e	34	8.225	de
83	41.111	a-c	104	22.222	bc	145	16.389	a-e	35	8.14	de
119	41.111	a-c	12	22.094	bc	160	16.296	a-e	12	7.404	e
160	41.1	a-c	35	21.767	c	158	16.111	a-e	55	7.361	e
DMSH	28.589			28.589			11.863			11.863	

^zMedias con la misma letra dentro de columnas son iguales (Tukey, $P = 0.05$); ^xMedias para el 10 % de accesiones con mayor valor; ^yMedias para el 10 % con menor valor; DMSH: Diferencia Mínima Significativa Honesta.

En cuanto a la severidad la accesión que fue atacada con mayor fuerza por los virus y presentó mayor sintomatología fue la 141. Por el contrario, la accesión

que presentó menor incidencia fue la 35 (170 BNGEN) y las que presentaron menor severidad fueron la accesión 12 (JAL 103) y 55 (148 BNGEN). Los materiales 35, 12 y 55 son los que podrían ser utilizados para realizar mejoramiento genético, por lo que se sugiere que se hagan más estudios en ellos. Los resultados anteriores se deben a que algunos materiales de tomate de cascara son susceptibles a los cinco virus evaluados y otros son resistentes o tolerantes, como también lo han encontrado otros investigadores (Fernández, 1995; Rosas; 1999; De la Torre *et al.*, 2002).

4.3.2 Factor virus

La comparación de medias entre los tratamientos con los virus se presenta en el Cuadro 6. Para altura de planta en el primer muestreo esta fue mayor en las plantas inoculadas con los virus AMV y TEV, aunque solo el primero superó significativamente al resto de los tratamientos. En el segundo y tercer muestreo de altura de planta todos los tratamientos con virus presentaron una disminución significativa en relación al testigo, excepto el AMV en el tercer muestreo, lo cual indica que este virus no tuvo mucho efecto en la reducción de altura. Los tratamientos que redujeron más la altura en el muestreo tres fueron el TEV y TMV, lo cual coincide con la sintomatología observada.

En cuanto a la variable número de hojas se puede observar (Cuadro 6) que en el primer muestreo todos los tratamientos son iguales; en el segundo muestreo se observa que el tratamiento TSWV fue el que tuvo mayor número de hojas y los demás tratamientos fueron iguales entre sí, a pesar de que el tratamiento

TMV produjo lesiones locales en las hojas inoculadas y que posteriormente las tiró no fue significativa la diferencia. En el tercer muestreo los tratamientos que redujeron el número de hojas fueron el TMV y TEV, al igual que la altura.

Los virus TEV y TMV fueron los que provocaron mayor incidencia y severidad en relación al testigo, que como era de esperarse fue el tratamiento menos afectado. La incidencia y severidad en los tratamientos con TEV y TMV fue muy alta en comparación con los demás tratamientos, como se puede observar en el Cuadro 6. Estos resultados son similares a los obtenidos por De la Torre *et al.* (2002) en aislamientos en tomate de cascara en los estados de México, Puebla y Morelos, quienes señalan también que la incidencia y severidad pueden usarse como un parámetro primario para identificar especies del virus TSWV y para la evaluación de la resistencia.

Cuadro 6. Comparación de medias de las variables evaluadas en plántulas de tomate de cáscara (*Physalis spp.*) en los diferentes tratamientos con respecto a virus.

Virus	A1	NH1	A2	NH2	A3	NH3	IN	SE
AMV	8.9 a	3.9 a	19.4 bc	5 b	31.5 a	8.3 ab	15.9 d	4.3 c
TSWV	7.9 d	3.9 a	18.4 e	5.3 a	29.4 c	8.1 b	22.1 c	6.1 b
CMV	8.6 bc	3.9 a	19.8 bc	5.0 b	30.6 b	7.5 c	23.8 c	6.4 b
TEV	8.7 ab	3.9 a	19.0 cd	5 b	28.1 d	7.0 d	74.0 a	29.8 a
TMV	8.5 bc	3.9 a	18.7 de	5.0 b	27.9 d	7.1 d	67.1 b	28.4 a
TESTIGO	8.3 c	3.9 a	20.3 a	5.1 ab	31.3 a	8.5 a	0.5 e	0.3 d
DMSH	0.3	0.0	0.4	0.1	0.5	0.2	3.6	1.5

Medias con la misma letra dentro de columnas son iguales (Tukey, $P = 0.05$); NH1, NH2 y NH3 = Número de hojas en los muestreos 1, 2 y 3 respectivamente; A1, A2 y A3: Altura de planta en los muestreos 1; 2 y 3 respectivamente; IN: Incidencia; SE: Severidad; DMSH: Diferencia Mínima Significativa Honesta.

4.4 Pruebas serológicas de ELISA

Las pruebas de ELISA realizadas en plántulas de tomate de cascara inoculadas mecánicamente en los diferentes tratamientos, detectaron infecciones en muchas de las accesiones dependiendo de cada virus (Cuadro 7).

Cuadro 7. Resultados de las pruebas serológicas de ELISA realizadas en plántulas de (*Physalis spp.*) inoculadas con diferentes virus.

NA	AMV	TSWV	CMV	TMV	TEV	NA	AMV	TSWV	CMV	TMV	TEV
1	-	-	+	+	+	49	-	-	+	+	+
2	-	-	+	+	+	51	-	-	+	+	+
3	-	-	-	+	+	52	-	+	+	+	+
5	-	-	-	+	+	53	-	-	+	+	+
6	-	+	+	+	+	54	-	+	-	+	+
7	-	-	-	+	+	55	-	-	-	+	+
8	-	-	+	+	+	56	-	-	-	+	+
9	-	-	+	+	+	57	-	-	-	+	+
10	-	+	-	+	+	59	-	-	-	+	+
11	-	-	-	+	+	62	-	-	+	+	+
12	-	-	-	+	+	63	-	-	+	+	+
14	-	-	-	+	+	64	-	-	-	+	+
15	-	-	-	+	+	65	-	-	+	+	+
16	+	-	-	+	+	66	-	-	-	+	+
18	-	-	-	+	+	67	-	-	+	+	+
20	+	+	+	+	+	68	-	-	-	+	+
21	-	+	+	+	+	69	-	+	-	+	+
22	-	-	+	+	+	70	-	-	+	+	+
23	-	-	+	+	+	71	-	-	+	+	+
24	-	-	+	+	+	73	-	-	+	+	+
25	-	-	+	+	+	74	-	-	+	+	+
26	-	-	-	+	-	75	-	-	+	+	+
27	-	-	+	+	+	76	-	-	+	+	+
28	-	-	+	+	+	77	-	-	+	+	+
29	-	-	+	+	+	78	-	-	+	+	+
30	-	-	+	+	+	79	-	-	+	+	+
31	-	-	+	+	+	80	-	-	+	+	+
32	-	-	+	+	+	81	-	+	+	+	+
33	-	-	+	+	+	82	-	+	+	+	+
34	-	-	+	+	+	83	-	-	+	+	+
35	-	+	+	-	+	86	-	-	+	+	+
36	-	-	+	+	+	87	-	-	-	+	+
38	-	-	+	+	+	88	-	+	+	+	+
39	-	-	-	+	+	89	-	-	+	+	+
41	-	+	+	+	+	90	-	-	+	+	+
42	-	-	+	+	+	92	-	-	+	+	+
43	-	-	+	+	+	93	-	+	+	+	+
45	-	-	+	+	+	94	-	+	+	+	+
47	-	-	+	+	+	95	+	+	+	+	+
48	-	+	+	+	+	96	+	+	+	+	+

Cuadro 7. Continuación.

NA	AMV	TSWV	CMV	TMV	TEV	NA	AMV	TSWV	CMV	TMV	TEV
97	-	+	+	+	+	138	-	-	-	+	+
98	-	+	+	+	+	139	-	+	+	+	+
99	-	+	+	+	+	141	-	-	-	+	+
101	-	-	+	+	+	142	-	-	+	+	+
102	-	-	+	+	+	143	-	-	+	+	+
104	-	+	+	+	+	144	-	+	+	+	+
105	-	-	+	+	+	145	-	-	-	+	+
106	-	-	-	+	+	146	-	-	-	+	+
108	-	-	+	+	+	147	-	-	-	-	+
109	-	-	+	+	+	152	-	+	-	+	+
110	-	-	-	+	+	153	-	-	-	+	+
111	-	-	-	+	+	154	-	+	-	+	+
112	-	-	-	+	+	155	+	-	-	+	+
113	-	-	-	+	+	156	+	-	-	+	+
114	-	-	-	+	+	157	+	+	-	+	+
115	-	+	-	+	+	158	+	+	-	+	+
116	-	+	-	+	+	159	+	-	-	+	+
117	-	-	-	+	+	160	+	+	-	+	+
118	-	+	+	+	+	161	+	+	-	+	+
119	-	+	-	+	+	162	+	-	-	+	+
120	-	+	-	+	+	163	-	+	-	+	+
121	-	+	-	+	+	164	-	+	-	+	+
122	-	+	-	+	+	165	-	+	-	+	+
124	-	+	-	+	+	167	-	-	-	+	+
125	-	-	-	+	+	168	-	+	-	+	+
126	-	-	-	+	+	170	-	-	-	+	+
127	-	-	-	+	+	172	-	-	-	+	+
129	-	+	-	+	+	173	-	+	-	+	+
131	-	+	-	+	+	174	-	+	-	+	+
132	-	+	-	+	+	175	-	+	-	+	+
133	-	-	-	+	+	176	-	+	-	+	+
134	-	-	+	+	+	177	-	-	-	+	+
135	-	-	-	+	+	178	-	-	-	+	+
136	-	-	-	+	+	179	-	+	-	+	+
137	-	-	-	+	+	180	-	+	-	+	+

NA: Número de accesión; +: Resultado positivo para la presencia de virus; -: Resultado negativo para la presencia de virus; AMV: Virus mosaico del alfalfa; TSWV: Virus de la marchitez manchada del tomate; CMV: Virus mosaico del pepino; TEV: Virus jaspeado del tabaco; TMV: Virus mosaico del tabaco.

Las infecciones detectadas con el virus mosaico de la alfalfa (AMV) resultaron positivas para las accesiones 20 (100 BNGEN), 16 (180 BNGEN), 95 (132 BNGEN), 155 (70 BNGEN) por mencionar algunas, aunque es importante mencionar que aproximadamente el 90 % de las accesiones resultaron negativas (140 de 150) para este virus. En el caso del virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV) las pruebas detectaron que fue positivo para algunas accesiones como son 6 (127 BNGEN), 10 (61 BNGEN), 20 (100 BNGEN), 180 (PUEBLA SM 3), etc. y al igual que en el virus AMV en una gran cantidad de accesiones (101 de 150) resultaron negativas, aproximadamente el 67 %. Para el virus mosaico del pepino (CMV) los resultados muestran que aproximadamente el 48 % de las accesiones resultaron positivas y el 52 % negativas (77 de 150). Para el virus mosaico del tabaco (TMV) y virus jaspeado del tabaco (TEV) las pruebas detectaron el virus en más del 90 % de las accesiones evaluadas; para el caso del virus TMV resultó negativo solo para las accesiones 35 (170 BNGEN) y 147 (201 BNGEN), y para el virus TEV se detectó negativo únicamente para la accesión 26 (48 BNGEN).

Las accesiones que resultaron negativas en los ensayos serológicos de ELISA son las que presentan algún tipo de resistencia y por consecuencia pueden ser utilizadas para mejoramiento genético, ya que hacen más confiable los resultados a que si solo se basaran en aspectos fenotípicos. Es importante mencionar que la accesión 147 (201 BNGEN) fue la única que presentó resultados negativos en las pruebas de ELISA para cuatro de los virus evaluados, excepto para el virus jaspeado del tabaco (TEV).

A pesar de los síntomas observados en muchas de las accesiones estudiadas, las pruebas serológicas arrojaron resultados negativos. Esto coincide con algunos resultados obtenidos por De la Torre *et al.* (2002) en poblaciones de tomate de cáscara sintomáticas colectadas en los estados de México, Morelos y Puebla.

4.5 Análisis conjunto

Con base a las pruebas serológicas de ELISA, la incidencia y la severidad, las accesiones con mayor tolerancia o resistencia y susceptibilidad se presentan en el Cuadro 8. Las primeras 20 accesiones son las que presentan mejores características, en tanto que las ultimas 10 fueron las más susceptibles al conjunto de virus evaluados.

Las mejores accesiones fueron la 26 (48 BNGEN) y la 147 (201 BNGEN) por presentar tolerancia o resistencia a cuatro de los cinco virus estudiados y por presentar baja incidencia y severidad. Destacan también la 35 (170 BNGEN), 55 (148 BNGEN) y la 12 (BNGEN) por presentar baja incidencia y severidad y tolerancia o resistencia al menos a tres virus. De las cinco accesiones referidas, solo la accesión 26 (48 BNGEN) presentó resistencia o tolerancia al TEV, en tanto que las accesiones 147 (201 BNGEN) y 35 (170 BNGEN) fueron las únicas resistentes o tolerantes al TMV. Con base en lo anterior, se puede decir que las mejores accesiones para incorporar a un programa de mejoramiento genético son la 26 (48 BNGEN), la 147 (201 BNGEN) y la 35 (170 BNGEN).

Las accesiones con menor resistencia o tolerancia fueron las accesiones 20 (100 BNGEN), 139 (PUE 210) y 159 (29 BNGEN). De acuerdo a las variables

incidencia y severidad la accesión 141 (MICH 201) es uno de los materiales menos tolerantes, aunque de acuerdo con las pruebas Serológicas de ELISA esta presenta resultados negativos a tres de los virus evaluados (Cuadro 6). Se sugiere estudiar a mayor profundidad tanto las accesiones tolerantes o resistentes como las susceptibles.

Cuadro 8. Accesiones con mayor y menor resistencia o tolerancia con base en pruebas de ELISA, incidencia y severidad.

NA.	ELISAS					IN	SE
	AMV	TSWV	CMV	TMV	TEV		
26	-	-	-	+	-	31.5	11.7
147	-	-	-	-	+	38.9	16.7
35	-	+	+	-	+	21.8	8.1
55	-	-	-	+	+	22.8	7.4
12	-	-	-	+	+	22.1	7.4
153	-	-	-	+	+	26.4	9.3
66	-	-	-	+	+	25.6	8.3
34	-	-	+	+	+	23.3	8.2
57	-	-	-	+	+	27.2	9.4
11	-	-	-	+	+	26.1	9.4
56	-	-	-	+	+	30.2	9.5
64	-	-	-	+	+	29.6	9.5
15	-	-	-	+	+	28.4	10.1
14	-	-	-	+	+	23.3	9.6
5	-	-	-	+	+	32.8	11.5
106	-	-	-	+	+	30.5	10.6
87	-	-	-	+	+	39.2	11.7
133	-	-	-	+	+	29.8	11.8
172	-	-	-	+	+	33.3	12.0
18	-	-	-	+	+	30.061	11.959
146	-	-	-	+	+	41.7	16.9
88	-	+	+	+	+	44.6	17.0
81	-	+	+	+	+	43.3	17.8
129	-	+	-	+	+	46.7	18.1
124	-	+	-	+	+	41.7	18.1
139	-	+	+	+	+	45.7	19.1
120	-	+	-	+	+	43.2	19.5
20	+	+	+	+	+	50.6	20.4
159	+	-	-	+	+	53.3	22.4
141	-	-	-	+	+	49.5	22.7
DMSH						3.6	1.5

NA: Número de accesión; ELISA NV (-): Número de virus con resultado negativo en la prueba de ELISA; IN: Incidencia; SE: Severidad; DMSH: Diferencia Mínima Significativa Honesta.

V. CONCLUSIONES

1. Se encontraron accesiones con resistencia o tolerancia a los virus evaluados, de acuerdo a las pruebas serológicas al menos una accesión resultó negativa a cada uno de los virus estudiados.
2. La accesión 26 (48 BNGEN) resultó negativa para AMV, CMV, TSWV y fue la única negativa para el TEV.
3. La accesión 147 (201 BNGEN) mostró resultados negativos para los virus AMV, TSWV, CMV y TMV.
4. Solo las accesiones 35 (170 BNGEN) y 147 (201 BNGEN) resultaron negativas para el TMV.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- Adkins, S. 2003. Tomato spotted wilt virus. Compendium of pepper diseases. APS PRESS. Pp. 39-40.
- Agrios, G. N. 2005. Plant pathology. Fifth edition. Elsevier Academic Press. San Diego. CA. 992 p.
- Astier, S.; Albouy, J.; Maury, Y.; Robaglia, C.; Lecoq, H. 2006. Principles of plant virology; genome pathogenicity, virus ecology. First edition. Science Publishers. 472 p.
- Bautista M., N.; Soto R., L.; Pérez P., R. 2009. Tópicos selectos de estadística aplicados a la fitosanidad. Primera edición. Colegio de Postgraduados. Texcoco, México. 256 p.
- Best, R. J. 1968. Tomato spotted wilt virus. Advances in Virus Research 13: 65-146.
- Cultek. 2006. Fundamentos y tipos de ELISAS. Protocolo y técnicas. URL: <http://www.cultek.com>.
- Creamer, R. 2003. Alfalfa mosaic virus. Compendium of pepper diseases. APS PRESS. Pp. 24-26.
- Cruz F., M. y Frías T., G. A. 1997. Guía ilustrada de la prueba de inmunoadsorción con enzimas ligadas para la detección de fitopatógenos. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Subsecretaría de Agricultura y Ganadería, Comisión Nacional de Sanidad Agropecuaria, Dirección General de Sanidad Vegetal, Centro Nacional de Referencia de Diagnóstico Fitosanitario. México, D. F. 23 p.
- D'Arcy, W. G. 1973. Solanaceae, In: Flora of Panama. Woodson, R. E.; Schery, R. W. (eds.). Annals of the Missouri Botanical Garden 60: St. Louis: Missouri, USA. Pp. 573-780
- De la Torre A., R. 1996 Caracterización histológica y molecular de un complejo viral en tomate de cascara (*Physalis ixocarpa*, Brot.) en los valles altos de México. Tesis de Doctor en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillos. México. 93 p.
- De la Torre-Almaráz, R., D. Téliz O., B. Barrón R., E. Cárdenas S., E. García L., M. 1998. Identificación de un complejo viral en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en la región centro de México. Revista Mexicana de Fitopatología 16(1): 1-11.
- De la Torre-Almaráz, R.; L., Cervantes-Díaz; H. A., Houston, R.; Valverde. 2002. Caracterización de un nuevo geminivirus en tomate de cáscara (*Abelmoschus esculentus*) en la región centro de México. Agrociencia 36: 471-481.
- De la Torre-Almaráz, R.; Salazar-Segura, M.; Valverde, R. 2003. Etiología del moteado amarillo del tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* B.) en México. Agrociencia 38: 227-238.
- De la Torre-Almaráz, R.; Monsalvo-Reyes, A. C.; Méndez-Lozano, J.; Rivera-Bustamante, R. F. 2004. Caracterización de un nuevo geminivirus asociado con los síntomas de moteado amarillo de la okra (*Physalis ixocarpa* B.) en México. Agrociencia 37: 277-289.

- Fernandez O., V. M. 1995. Comportamiento de colectas de tomate de cáscara (*Physalis* spp.) al daño por plagas y enfermedades en Xicotepec, Morelos. Tesis de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal. Parasitología Agrícola. UACH. Chapingo, México. 80 p.
- Fraser, R. S. S. 1987. Genetic of plant resistance to viruses. *In*: Plant resistance to viruses. Harrison, B. D. (ed.) Ciba Foundation Symposium 133; Johnson Wiley & Sons Ltd. Chichester. UK. Pp. 6-15.
- Fritting, B., S. Kauffmann, B. Dumas, P. Geoffroy, M. Koop and M. Legrand. 1987. Mechanism of the hypersensitivity reaction of plants. *In*: Harrison, B. D. 1987. Plant Resistance to Viruses. Ciba Foundation Symposium 133. Johnson Wiley & Sons Ltd. Chichester. UK. Pp. 92-101.
- Garzón T., J. A. 1987. Alternativas para el control de virus en hortalizas. Enfermedades virales y viroidales en cultivos de importancia en México, memoria. SARH-INIFAP Celaya, Gto. México. P. 64.
- Greenleaf, W. H. 1953. Effects of tobacco etch virus on peppers (*Capicum* sp.) *Phytopathology*. 43: 564-570.
- Harrison, B. D. 1987. Plant Resistance to Viruses. Ciba Foundation Symposium 133. Johnson Wiley & Sons Ltd. Chichester. UK. 214 p.
- Himmel, P. T. 2003. Tobacco mosaic virus. Compendium of pepper diseases. APS PRESS. Pp. 38-39.
- Horváth, J. 1970. Reaction of *Physalis* species to plant viruses XI. Additional data on the susceptibility of *Physalis ixocarpa*, *Physalis philadelphica* and *Physalis pruinosa*. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 23 (1-2): 137-141.
- Magdaleno-Villar, J. J.; Peña-Lomelí, A.; Castro-Brindis, R.; Castillo-González, A. M.; Galvis-Spinola, A.; Ramirez-Pérez, F.; Hernandez-Hernandez, B. 2006. Efecto de soluciones nutritivas sobre el desarrollo de plántulas de tomate de cascara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 12 (2): 223-229.
- Martínez R., A. 2000. Estrategias para el combate de virosis en tomate de cascara (*Physalis ixocarpa*, Brot.) en Chapingo, México. Tesis de Licenciatura. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. México. 63 p.
- Martínez, M. 1998. Revision of *Physalis* section *Epeteiorhiza* (*Solanaceae*). *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica* 69 (2): 71-117.
- Matthews, R. E. F. 1992. Fundamentals of Plant Virology. Acad. Press, Inc. USA. 403 p.
- Menzel, Y. M. 1951. The cytotaxonomy and genetics of *Physalis*. *Proc. Amer. Philos Soc.* 95 (2): 132-183.
- Murphy, J. F. 2003. Cucumber mosaic virus. Compendium of pepper diseases. APS PRESS. Pp. 29-31
- Negrete, F. G.; Valencia, L. J. B.; Hernández, D. M. G. 2014. Protocolo de diagnóstico de *Pepper mild mottle virus* (PMMoV) mediante las técnicas de ELISA y PCR. Dirección General de Sanidad Vegetal, Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria, Laboratorio de virología. México, D. F. 16 p.

- Pandey, K. K. 1957. Genetics of Self-incompatibility in *Physalis ixocarpa*, Brot., a new system. Amer. J. Bot. 44: 879-887.
- Peña L., A. 1998. Parámetros genéticos, respuesta la selección y heterosis en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Tesis de Doctor en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 151 p.
- Peña L., A.; J. F. Santiaguillo H. 1999. Variabilidad genética de tomate de cascara en México. Departamento de Fitotecnia. Programa Nacional de Investigación de Olericultura. UACH. Boletín Técnico # 3. 26 p.
- Pérez G., M., F. Márquez S. y A. Peña L. 1997. Mejoramiento Genético de Hortalizas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Méx. 380 p.
- Pérez M., L.; Granados A., J. 2001. Fertilización nitro-fosfórica en tomate de cáscara *Physalis ixocarpa* Brot. de riego, en Irapuato, Gto., México. Acta Universitaria 11 (1): 19-25.
- Pérez M., L.; Rico, J. E. 2004. Virus fitopatógenos en cultivos hortícolas de importancia económica en el estado de Guanajuato. Primera edición. Universidad de Guanajuato. 25: 11-17.
- Reddick, B. B. 2003. Tobacco etch virus. Compendium of pepper disease. APS APRESS. 38 p.
- Reina, M. 2003. Métodos en biología celular. Material docente diseñado y elaborado por Manuel Reina. URL: <http://www.ub.es/biocel/wbc/técnicas/elisa.htm>
- Robles-Hernández, L.; A. C. González-Franco; E. Gill-Langarica; L. Pérez Moreno y J. C. López-Díaz. 2010. Virus que afectan al cultivo de chile en México y análisis de las técnicas de detección. Tecnociencia Chihuahua 4(2): 72-86.
- Rosas Meza, Artemio. 1999. Respuesta de germoplasma de tomate de cáscara (*Physalis* spp) a virus que provocan la enfermedad 'Chino del tomate'. Tesis de Maestría en Ciencias en Horticultura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 82 p.
- Sainz R., R. A. y J. Ramírez V. 1991. Principales enfermedades del tomate de cascara (*Physalis ixocarpa*) en Yurécuaro y Tanhuato, Michoacán. XVIII Congreso Nacional de Fitopatología. Puebla. P. 45.
- Sánchez del C., F., y E. Escalante R. 1989. Hidroponía: un sistema de producción de plantas; principios y métodos. 3ª edición. UACH. Chapingo, México. 194 p.
- Santiaguillo H., J. F.; O. Vargas P.; Grimaldo J.; N. Magaña L.; J. F. Caro V.; A. Peña L.; J. Sánchez M. 2012. Diagnóstico del tomate de cáscara. Universidad Autónoma Chapingo. México. 46 p.
- Santiaguillo H., J. F.; E. Cedillo P.; J. A. Cuevas S. 2010. Distribución geográfica de *Physalis* spp. en México. Gráficos Prometeo Editores. Guadalajara, Jalisco. 245 p.
- Santiaguillo H., J. F., R. López M., A. Peña L., J. A. Cuevas S. y J. Sahagún C. 1994. Distribución, colecta y conservación de germoplasma de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en México. Revista Chapingo; Serie Horticultura 2: 125-129.

- Saray M., C. R.; Palacios A., A.; Villanueva, E.1978. Rendidora: una nueva variedad de tomate de cáscara. El campo. 54 (1041): 17-21.
- SIAP. 2013. Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Disponible en: http://infosiap.siap.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=286&Itemid=428.
- Soldevilla C., S.; A. Peña L.; F. Solis M.; T. R. Vázquez R.; M. T. Colinas L. 2002. Aplicación al suelo de CO₂, uso de acolchados plásticos y sistemas de manejo en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa*, Brot.). Revista Chapingo Serie Horticultura. 8(1): 25-38.
- Strange, R. N. 1993. Plant disease control; towards environmentally acceptable methods. Chapman and Hall. London. UK. 327 p.
- Urías M., C. y J. G. Valenzuela U. 1992. Importancia de las enfermedades virales en la producción agrícola en México. En: áfidos como vectores de virus en México. Vol. I. Fitopatología. Colegio de Postgraduados. Montecillos. México. P. 8.
- Valtierra P., E.; Ramos S., A. 2003. Programa Estratégico de Necesidades de Investigación y Transferencia de Tecnología de la Cadena Productiva de Tomate Verde en el Estado de Puebla. Fundación Produce Puebla, Gobierno del estado de Puebla. México. 237 p.
- Velasco C., I. 2006. Detección molecular de virus de DNA y RNA asociados al cultivo de tomate de cascara (*Physalis ixocarpa*, Brot.) en plántulas obtenidas *in vitro*. Tesis de Licenciatura. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. México. 64 p.
- Verdugo F., 1989. Etiología de una nueva enfermedad de tomate en Sinaloa: supervivencia. Memorias XVI Congreso Nacional de Fitopatología. Montecillo, Estado de México. P. 14.
- Watterson, J. C. 1993. Development and breeding of resistance to pepper and tomato viruses. *In*: Resistance to viral diseases of vegetables: genetics and breeding. M. M. Kyle. Pp. 80-101.

