

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

TRABAJO DE TESIS



Evaluación del comportamiento de cinco materiales de tomate (*Lycopersicum esculentum Mill*) ante el ataque del complejo mosca blanca – geminivirus en la región central del país

AUTOR

Br. Mayteza Zelaya Obregón

ASESOR

Ing. MSc. Aldo Rojas Solís

MANAGUA, NICARAGUA - 2004

INDICE

CONTENIDO	PÁGINAS
INDICE	i
INDICE DE TABLAS	iv
INDICE DE FIGURAS	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTOS	vii
RESUMEN	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	7
III. MATERIALES Y MÉTODOS	8
3.1- Ubicación del experimento	8
3.2- Tratamientos evaluados	8
3.3- Metodología	9
3.3.1- Establecimiento del semillero	9
3.3.2- Establecimiento en campo	9
3.3.3- Metodología de muestreos	10

3.3.3.1- Etapa de semillero	11
3.3.3.2- Etapa de campo	11
3.4- Etapa de laboratorio	12
3.4.1- Extracción de ADN de tejido infectado con geminivirus	12
3.4.2- Preparar la PCR	13
3.4.3- Electroforesis	13
3.4.4- Visualización de las bandas	14
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
4.1- Promedio de moscas blancas en los materiales evaluados	15
4.2- Incidencia de geminivirus sobre los materiales evaluados	16
4.3- Severidad de los síntomas presentados por los materiales evaluados	18
4.4- Datos agronómicos	21
4.4.1- Racimos florales por planta	21
4.4.2- Flores por planta	22
4.4.3- Frutos por planta	23
4.4.4- Rendimientos en kg/ ha	24
4.5- Etapa de laboratorio	26
V. CONCLUSIONES	27
VI. RECOMENDACIONES	28
VII. BIBLIOGRAFÍA	29

VIII. ANEXOS	33
Anexo 8.1. Análisis de varianza para la fluctuación poblacional de mosca blanca	34
Anexo 8.2. Análisis de varianza de la incidencia del complejo mosca blanca geminivirus	34
Anexo 8.3. Análisis de varianza de la severidad de los síntomas presentados por las líneas evaluadas	35
Anexo 8.4. Análisis de varianza para el número de racimos	36
Anexo 8.5. Análisis de varianza para el número de flores	37
Anexo 8.6. Análisis de varianza para el número de frutos	38
Anexo 8.7. Análisis de varianza para el rendimiento	39
Anexo 8.8. Resultados del análisis electroforético	40

INDICE DE TABLAS

TABLA	PÁGINA
Tabla 1	5
Tabla 2	8
Tabla 3	9
Tabla 4	11

INDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
Figura 1	4
Figura 2	16
Figura 3	16
Figura 4	18
Figura 5	18
Figura 6	20
Figura 7	20
Figura 8	22
Figura 9	23
Figura 10	24
Figura 11	26

DEDICATORIA

*Al finalizar mis estudios superiores dedico con mucho amor y admiración esta tesis a mi madre **Mayra del Socorro Obregón García**, quien compartió mis aspiraciones, anhelos y esfuerzos para que pudiera concluir con éxito mis estudios.*

Mi carrera la concluyo gracias a que en ningún momento me has dejado sola, siempre has estado a mi lado alentándome e impulsándome a que siga adelante.

Tu apoyo y sacrificio se antepusieron a las limitaciones y adversidades. Para ti mi amor, respeto e inmenso agradecimiento.

Con amor hoy te dedico este trabajo que es la finalización de mi carrera de la que formas parte, este esfuerzo es más tuyo que mío por que sin vos a mi lado hubiera sido más difícil llegar hasta aquí.

Mayteza Zelaya Obregón

AGRADECIMIENTOS

Elevo mi plegaria al Padre Celestial, y le doy gracias por haberme dado espíritu de superación, capacidad e inteligencia que me permitieron asimilar y desarrollarme durante mis estudios; así como por colocar en mí camino tantas personas que me brindaran su apoyo.

*Deseo patentizar mi profundo agradecimiento a mi madrina **Brenda Kauffman**, quien desde el inicio de mi carrera ha compartido mis aspiraciones y siempre ha estado presente con su apoyo y solidaridad, asumiendo con cariño su papel de Madre Espiritual, haciéndome sentir segura de que puedo contar incondicionalmente con su apoyo.*

*Agradezco a mi Padre **Mario Zelaya Ortega**, por el entusiasmo y la confianza que siempre tuvo en mi capacidad y dedicación a mis estudios.*

*Deseo expresarle mis agradecimientos a **María Mercedes Guerrero** por todo su apoyo y cariño.*

*Quiero agradecerle a mi nana **Panchita**, a quien le debo no sólo el logro de culminar mi carrera, sino cada uno de los éxitos que he alcanzado y alcanzaré en mi vida por ser partícipe de mi crianza.*

*Extiendo mis agradecimientos a mi querido profesor y asesor MSc. **Aldo Rojas Solís**, por el estímulo y apoyo que me dio en la realización de este trabajo, fortaleciendo mi espíritu de superación y el deseo de ser mejor profesional y mejor persona.*

*Le agradezco al profesor Ing. **Arnulfo Monzón**, su colaboración en la realización de este trabajo, por su tiempo y dedicación, gracias.*

*Me gustaría tener la oportunidad de nombrar a cada una de las personas que me acompañaron en los diferentes momentos de mis estudios y que hoy comparten mis éxitos con mucha alegría. Para ellos y ellas mi gratitud y agradecimiento. A mis tíos **Ricardo** y **Oscar Obregón**, que me*

*brindaron su apoyo; A mi tía **Esmeralda Zeledón**, por todo su cariño y confianza; A mi madre **Cande**, quien me acogió con cariño en su casa y desde entonces me brinda su apoyo. A mis amigas en especial a **Damara Vásquez**. De igual manera a mis hermanos **Mario José** y **Ricardo Roberto** quienes están siempre apoyándome.*

Mis agradecimientos al programa **PhD-UNA-SLU** por el financiamiento de este trabajo; así como también al **INTA-Chontales** por la realización de este trabajo en colaboración con esta institución.

Mayteza Zelaya Obregón

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar cinco materiales de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) ante infestaciones naturales del complejo mosca blanca – geminivirus en la región Central del país en el período comprendido de Diciembre 2002 – Abril 2003. En este experimento se evaluaron las líneas TY-4, TY-12, TY-13 y las variedades MTT-013 y MTT-019, el diseño utilizado fue el de Bloques Completo al Azar (BCA). Las variables evaluadas fueron: población de moscas blancas/pta, incidencia de la enfermedad, severidad de la enfermedad, número de racimos florales, número de flores, número de frutos por planta y rendimientos (kg/ha). A los datos obtenidos se les aplicó un Análisis de Varianza y una separación de medias según Tukey. Los resultados indicaron que la línea TY-4 y la TY-13 fueron las más tolerantes al complejo mosca blanca – geminivirus, siendo la variedad MTT-013 la más susceptible. En cuanto a la severidad, la mejor línea es la TY-4 seguida de la TY-13 y la TY-12, siendo la más severamente afectada la variedad MTT-013. En el caso de la población de mosca blanca, la variedad MTT-013 fue en la que se encontró el mayor número de adultos y en la que se encontraron el menor número de adultos de mosca blanca fue la línea TY-13. Para las variables racimos florales y flores la variedad que obtuvo el mayor promedio fue la variedad MTT-013 y el menor la línea TY-4. En el caso de los frutos, el material con menor promedio fue la variedad MTT-013 y los mayores promedios los alcanzaron las líneas TY-12 y TY-13, respectivamente. El mayor rendimiento lo alcanzó la línea TY-13 con un rendimiento equivalente de 19,000 kg/ha y el menor la variedad MTT-013 con un rendimiento equivalente de 7,000 kg/ha. En la etapa de laboratorio se comprobó efectivamente la presencia de geminivirus en todos los materiales evaluados.

I. INTRODUCCIÓN

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) es una hortaliza originaria de Sudamérica y se encuentra ampliamente distribuida por todo el continente. Es una de las hortalizas más cultivadas a nivel mundial. El tomate en la actualidad aún se encuentra silvestre en algunas regiones y es en esas plantas autóctonas que los investigadores y mejoradores genéticos trabajan para lograr cierto tipo de resistencia a los diferentes problemas fitosanitarios, los cuales dejan como resultado la obtención de plantas pequeñas, la caída de flores, frutos pequeños con mal sabor y en algunos casos no llegan a producir (Rodríguez *et al.*, 1997). Los problemas fitosanitarios son provocados por plagas insectiles como: el coralillo (*Elasmopalpus lignosellus*), los gusanos del fruto (*Helicoverpa zea* y *Heliothis virescens*), mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn) y enfermedades causadas por patógenos dentro de las que tenemos: Tizón tardío (*Phytophthora infestans*), Tizón temprano (*Alternaria solani*), entre otras; sin embargo, el problema de mayor importancia es el causado por los *Geminivirus* transmitidos por *B. tabaci* que es su único vector y que en la actualidad son causantes de pérdidas que alcanzan del 20% al 100%. Este problema lleva a buscar soluciones en la introducción de nuevos cultivares que sustituyan los utilizados por los productores los que son susceptibles al ataque de los virus transmitidos por la mosca blanca. Para la selección de dichos materiales se toman en cuenta características como calidad de frutos y tolerancia a las enfermedades más comunes (INTA, 1999; INTA, 2002).

En Nicaragua el tomate es una de las hortalizas más importantes económicamente, debido a la creciente demanda del mercado por verduras frescas las que están siendo incorporadas a la dieta de los nicaragüenses. Ocupa uno de los primeros lugares en consumo, producción y comercialización; se cultiva tanto en la zona del Pacífico como en la zona Central; a gran escala se cultiva en el Valle de Sébaco, Tomatoya, Jinotega, Estelí, Tisma y Nandaime. Los rendimientos promedios varían de 12000 a 18000 kg/ha. Cultivándose en el país anualmente 2000 a 2500 /ha (INTA, 1999).

B. tabaci puede causar daños como plaga directa cuando sus poblaciones son altas, succionando nutrientes o bien de forma indirecta como vector de geminivirus. *B. tabaci* posee características que la hacen causante de graves problemas en la producción. Entre estas características tenemos: Su gran plasticidad genética; hasta ahora se conocen 17 razas o biotipos de *B. tabaci* siendo esta el único vector de *geminivirus* en la familia (*Homóptera: Aleyrodidae*). Sus poblaciones desmesuradas las que se mantienen muy altas durante la época seca, esto en dependencia de su potencial reproductivo. Su gran movilidad debida a las dos formas como se desplaza, la primera es migratoria la cual está determinada por el viento y la otra son vuelos cortos que realiza durante el día en el área de cultivo. Así como el amplio rango de hospederos de *B. tabaci*, la que se ha visto asociada con al menos 56 cultivos y 50 especies de plantas silvestres. Y quizás una de sus características más importantes es su asocio con geminivirus. La mosca blanca es capaz de transmitir varios virus como *carlavirus*, *luteovirus*, *nepovirus*, *potyvirus* y *closterovirus* (Hilje, 1996), sobresaliendo por la transmisión de geminivirus (Hilje, 2001), lo que la hace de gran importancia en el continente y a nivel mundial. Se presenta en altitudes entre 0 a 1000 msnm aunque ha sido reportada a mayores altitudes. Se encuentra afectando diversos cultivos sobre todo a los de las familias *Cucurbitaceae*, *Solanaceae*, *Fabaceae* y *Malvaceae* (Caballero, 1996). El ciclo de vida de *B. tabaci* en condiciones de laboratorio a temperaturas de 26° C con 80% de humedad relativa dura 19.2 días (Alvarenga *et al.*, 1998). *B. tabaci* es un insecto polífago y dada la diversidad de cultivos sembrados en Nicaragua sus poblaciones se mantienen activas (Gómez, 1992).

Los geminivirus han alcanzado gran importancia como patógenos a escala mundial. Pertenecen a la familia *Geminiviridae* que comprende numerosos y diversos virus de plantas. Los geminivirus tienen un genoma de ADN de simple banda (sb) que se duplica usando moléculas intermediarias de ADN doble banda (db) dentro de las células vegetales infectadas. Se caracterizan por estar compuestos de partículas icosaédricas y circulares. Los geminivirus se clasifican en cuatro géneros *Mastrevirus*, *Curtovirus*, *Topocovirus* y *Begomovirus* que se caracterizan por el tipo de insecto vector, su rango de hospederos y su organización genómica (Rojas *et al.*, 2000; Ramírez y Bustamante, 1996; Zúñiga y Ramírez, 2002). La mayoría de geminivirus encontrados en América Latina pertenecen al

género *Begomovirus* y son bipartitas. Sin embargo recientemente se ha informado de la presencia de *Begomovirus* monopartitas. Los *Begomovirus* bipartitas presentan un genoma de ADN "A" y ADN "B" de simple banda de 2,5 - 3 kb y presentan genes tanto en las bandas virales (V) como en las bandas complementarias (C), producto de la replicación. Cinco son los genes que se localizan en la molécula de ADN "A" (AC1, AC2, AC3, AC4, AV1) y dos en la molécula de ADN "B" (BC1, BV1) (Lazarowitz, 1992) (Figura.1). Los genes que se encuentran en la banda complementaria se expresan temprano en el ciclo del patógeno y los que se localizan en la banda viral, en forma tardía (Xiong, 1998; citado por Zúñiga y Ramírez, 2002). En la Tabla 1 se indican las nomenclaturas usadas para nombrar los genes de los geminivirus. Los *Begomovirus* son transmitidos a plantas dicotiledóneas por mosca blanca (Novat, *et al.*, 1991) y su transmisión es de forma circulativa o persistente y no propagativa es decir que no se reproducen dentro del vector (Hilje, 2001). Los geminivirus en América se encuentran afectando el cultivo del tomate en los diferentes países o zonas de un mismo país, pudiendo afectar sólo (infecciones simples) o mezclados (infecciones mixtas) en una misma planta. Los geminivirus se reproducen en el floema transportándose rápidamente por toda la planta. La rápida proliferación y diseminación de los geminivirus en América Latina es consecuencia de cambios drásticos en los sistemas de cultivos (Zúñiga y Ramírez, 2002).

En Nicaragua en los años 70' en Tisma, Masaya se observó una enfermedad en el cultivo del tomate la cual fue atribuida a la presencia de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*). Ya en los años 80' se reportan daños en varios cultivos de importancia alimenticia, causados por la virosis transmitida *B. tabaci* (Rojas *et al.*, 2000). Para ese mismo tiempo en el Valle de Sébaco se reportan los primeros daños causados por la virosis transmitida por *B. tabaci* en el cultivo del tomate. Para los años 90'se reportan reducciones en los rendimientos que alcanzan del 20% hasta el 100% (Varela, 1995). En Nicaragua son cuatro los grupos de geminivirus que se han reportado: Uno relacionado con el *Virus del enrollamiento de las hojas del tomate Sinaloa* (STLCV) en Estelí, Matagalpa y Chontales, otro grupo reportado en Boaco relacionado con el *Virus del mosaico dorado de la Sida* (SiGMV), un tercer grupo relacionado con el *Virus de la hoja de cuchara del tomate* (TLCrV) en Chontales y un cuarto grupo en las zonas de Sébaco, Condega y Masaya relacionado con el *Virus del*

moteado suave del tomate, siendo éste último el grupo de mayor importancia (Rojas *et al.*, 2000).

Figura 1. Esquema representativo de la organización del genoma de un Begomovirus bipartita (Lazarowitz, 1992)

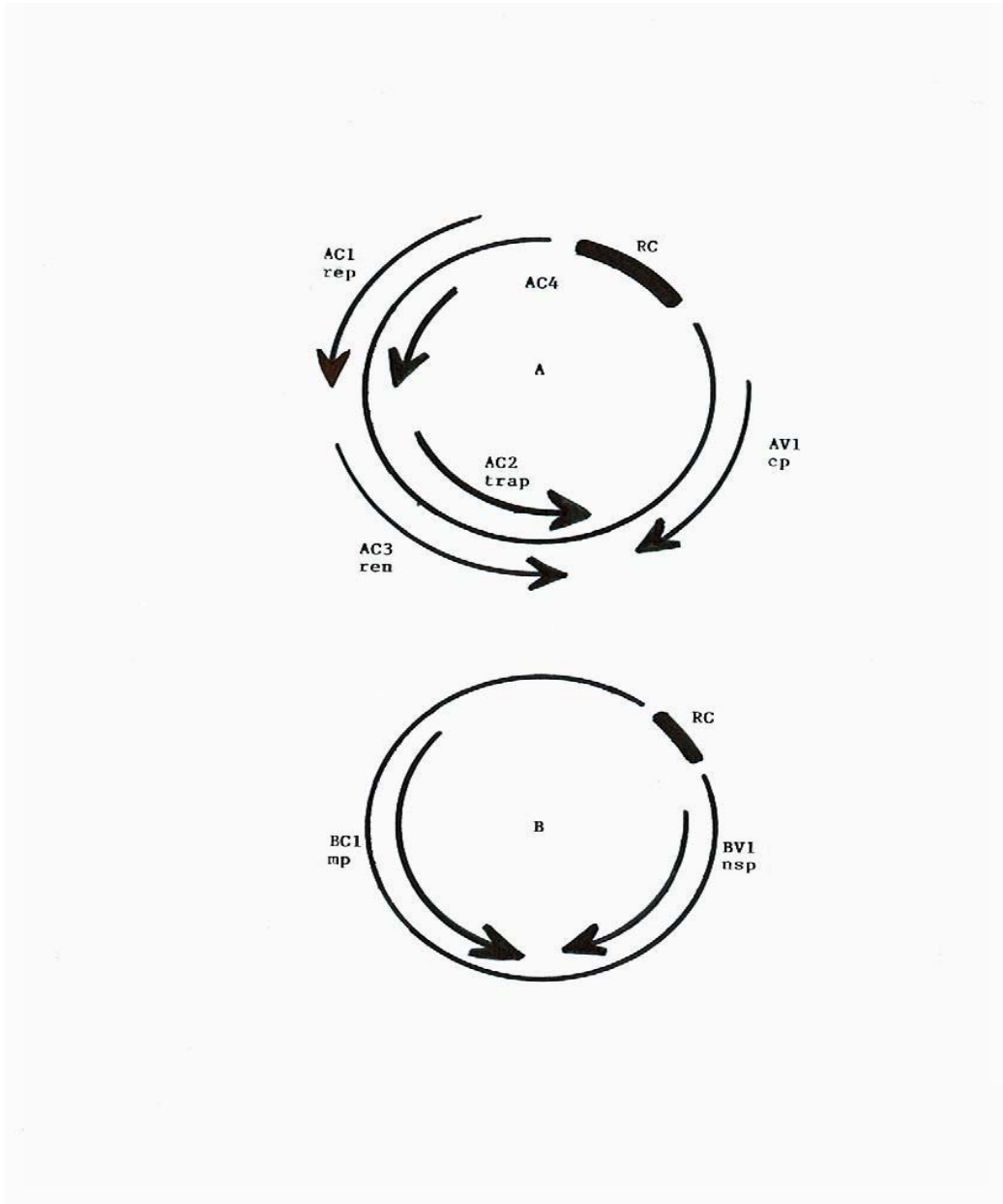


Tabla. 1. Nomenclatura, localización, sentido de la transcripción y función de los genes de los *Begomovirus* bipartitas (Lazarowitz, 1992)

Nomenclatura		Función	Localización	Sentido de la Transcripción
Gen	Proteína			
AC1	Rep	Duplicación del ADN	Componente A	Complementario
AC2	trap	Transcripción de AV1 y BV1	Componente A	Complementario
AC3	ren	Incrementa la eficacia de la multiplicación	Componente A	Complementario
AC4		No se conoce	Componente A	Complementario
AV1	cp	Proteína de cubierta	Componente A	Viral
BC1	mp	Movimiento del virus de célula a célula por plasmodesmo y participación en patogenicidad y expresión de síntomas	Componente B	Complementario
BV1	nsp	Movimiento del virus hacia afuera del núcleo y participación en patogenicidad y expresión de síntomas	Componente B	Viral

Muchas son las prácticas que se han implementado para el manejo del complejo mosca blanca-geminivirus. Estas incluyen el uso de insecticidas químicos y botánicos, coberturas al suelo, siembra con barreras rompevientos, trampas amarillas impregnadas con aceite, viveros protegidos, repelentes/disuasivos, etc. (Hilje, 2001; CATIE, 1990; Sponanjel y Fuñez, 1994). Sin embargo, la respuesta más prometedora para el manejo del complejo mosca blanca-geminivirus es el uso de las estrategias de ingeniería genética (Zúñiga y Ramírez, 2002). En Nicaragua el problema causado por los *geminivirus* transmitidos por mosca blanca ha causado grandes pérdidas en las zonas hortícolas como el Valle de Sébaco,

Tomatoya, Jinotega, Estelí, Tisma y Nandaime; siendo una de las zonas afectadas la comunidad de Las Peñitas en Tecolostote en donde el tomate es la principal hortaliza cultivada por los productores de la región. En respuesta a este problema en nuestro país se ha hecho importante la búsqueda de nuevo germoplasma de tomate para identificar las variedades superiores en rendimientos y conocer sus grados de tolerancia. Así desde 1991 el INTA y la misión técnica de la República de China Taiwán en Nicaragua se han dedicado a la evaluación y selección de nuevas variedades con características como altos rendimientos y tolerancia a virosis; en 1996 se difundió en nuestro país la variedad MTT-013. Actualmente se siguen evaluando nuevas variedades y materiales de tomate (INTA, 2002).

Por tanto con el presente trabajo se pretende evaluar la respuesta de las líneas TY-13, TY-12 y TY-4, así como las variedades MTT-013 y MTT-019 al complejo mosca blanca-geminivirus y contribuir con la búsqueda de alternativas para el combate de los geminivirus transmitidos por mosca blanca.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la respuesta de tres líneas de tomate TY y dos variedades MTT sometidas a incidencias naturales del complejo mosca blanca-geminivirus bajo el manejo convencional de los productores en la Región Central de Nicaragua.

OBJETIVO ESPECIFICO

1. Evaluar la fluctuación poblacional de la mosca blanca sobre las líneas de tomate TY-12, TY-13, TY-4 y las variedades MTT-013 y MTT-19.
2. Evaluar la incidencia de la enfermedad y la severidad de los síntomas, causados por geminivirus sobre las líneas de tomate TY-12, TY-13, TY-4 y las variedades MTT-013 y MTT-019.
3. Determinar el material de tomate con mayor grado de tolerancia y mejor rendimiento, ante el ataque de la virosis causada por geminivirus y transmitida por la mosca blanca en la zona de Tecolostote.
4. Determinar la presencia de geminivirus transmitidos por mosca blanca en los materiales evaluados a través de técnicas moleculares en el laboratorio.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1- Ubicación del experimento

El ensayo se estableció en la finca La Ceiba propiedad del señor Celestino Dávila ubicada en el caserío de Las Peñitas situado 3½ Km al suroeste del poblado de Tecolostote en el Municipio de San Lorenzo en el Departamento de Boaco cuya zona es productora de hortalizas. Las coordenadas geográficas de Las Peñitas son: 12°12'33" LT (Latitud norte) y 85°40'10" LW (Longitud oeste). El ensayo se estableció en la época de Apante-Riego 2002-2003, a orillas del río cuyos suelos son aluviales en franjas (INETER, 2003; INEC, 1995).

3.2- Tratamientos evaluados

Los tratamientos del ensayo fueron tres líneas de tomate TY y dos variedades comerciales MTT obtenidas en la Estación experimental del Valle de Sébaco y la Misión técnica de China Taiwán; cuyos nombres se mencionan a continuación: TY-4, TY-12, TY-13, MTT-019 y MTT-013.

Es importante mencionar que actualmente la variedad TY-13 ya ha sido liberada en el Valle de Sébaco. Las características de los materiales TY-13, TY-4, MTT-013 y MTT-019 son mencionados a continuación. En el caso de la TY-12 no se tienen sus características pues es un material nuevo.

Tabla 2. Características de los tomates TY-4 y TY-13 (INTA, 2002)

CARACTERÍSTICAS	TY-4	TY-13
Hábito	Semi- indeterminado	Determinado
Días a flor	21 DDT	19 DDT
Días a fructificación	36 DDT	33 DDT
Tolerancia a virosis	Tolerante	Tolerante
Tipo de tomate	Mesa	Mesa

Tabla 3. Características de las variedades MTT-013 y MTT-019
(CRUZ Y ALVARENGA, 1996)

CARACTERSTICAS	MTT-013 y MTT-019
Hábito	Semi-indeterminado
Días a flor	20-22 DDT
Días a fructificación	19-35 DDT
Tolerancia a virosis	Tolerante
Tipo de tomate	Mesa

3.3- Metodología

3.3.1- Establecimiento del semillero

- Los bancos del semillero fueron preparados de forma manual el día 12 de Diciembre del 2002 con aproximadamente 1m de ancho y 2 m de largo con una altura de 10 cm.
- Las semillas se sembraron en hileras a lo ancho del banco con una distancia de 10 cm entre cada hileras colocando la semilla a chorrillo ralo el 18 del mismo mes.
- El riego durante el semillero se realizó con una regadera y el control de malezas de forma manual.

3.3.2- Establecimiento en campo

- El área del ensayo fue de 430 m², la cual fue preparada utilizando tracción animal. El rayado se realizó a distancia de 1m entre las hileras.
- El transplante se realizó el día 23 de Enero del 2003 a los 30 días de la germinación, a una distancia de 0.5 m entre planta.
- Las dimensiones del experimento eran 10 m de ancho por 10 m de largo.
- Cada tratamiento constó de 2 surcos.

El diseño experimental usado fue el de Bloques Completo al Azar BCA, el que consistió de 5 tratamientos y 4 repeticiones; para el análisis de los datos se utilizó un análisis de parcelas divididas en el tiempo en el que se tomó como factor A las fechas de los muestreos y como factor B las líneas evaluadas, en el caso de la variables mosca blanca, severidad e incidencia; Para los datos agronómicos solo se promediaron los datos recopilados en los diferentes muestreos y se analizaron como uno solo para las variables racimos, flores, frutos y rendimientos; la separación de medias utilizada fue la de Tukey. Para el análisis de varianza que se realizó se transformaron los datos obtenidos de la escala de severidad aplicando la fórmula $\% \text{ severidad} = (\sum \text{ de los valores de escala asignados a las plantas} \div \text{ el total de plantas evaluadas por el valor máximo de la escala}) \times 100$; así como la transformación arcsen ($\theta = \arcsen \sqrt{p}$) para la variable severidad y la transformación $(\sqrt{x+5})$ para la variable mosca blanca.

- El manejo del ensayo estuvo a cargo del dueño de la finca estableció el ensayo.
- La fertilización se hizo usando 22.7 kg/430 m² equivalente a 528 kg/ha de la fórmula 12-30-10 y la misma cantidad de urea; también se realizó una aplicación de 120 g del abono foliar Tacramento.
- Para el control de enfermedades y plagas se hicieron aplicaciones de diferentes productos.
- El aporque se realizó dos veces en la etapa de campo haciendo uso de un azadón.
- Para el tutoreo se utilizó mecate y estacas que se colocaron en los extremos de cada hilera.
- El riego se realizaba por gravedad dos veces por semana.
- El control de malezas se realizaba de forma manual usando machete.

3.3.3- Metodología de muestreos

La toma de datos se realizó con una frecuencia de una vez por semana en horas de mañana.

3.3.3.1- Etapa de semillero

El semillero fue establecido por el productor de forma tradicional, este se dejó totalmente descubierto de manera que estuviera expuesto a las incidencias naturales de mosca blanca. Durante esta etapa no se tomaron datos de la población de mosca blanca, considerando que la presencia de esta en la zona es constante.

3.3.3.2- Etapa de campo

Se revisaban 10 plantas por cada tratamiento para tener en total 40 plantas en las 4 repeticiones, en cada planta se revisó 1 hoja y en cada hoja se contó el número de moscas; en muestreos posteriores se inició con la clasificación de las plantas según el grado de severidad de los síntomas virales que presentarían de acuerdo a una escala de severidad de REDCAHOR (1999) modificada por Rojas (2000) (Tabla 4). La incidencia se evaluó contando las plantas que estuvieran enfermas de las 10 muestreadas; Una vez iniciada la floración se tomaron datos de número de racimos florales/planta, número de flores/planta y número de frutos/planta muestreada; llegado el momento de la cosecha se pesaron los frutos en kg y se sacó el rendimiento por ha.

TABLA 4. ESCALA DE SEVERIDAD DE LOS SÍNTOMAS DE GEMINIVIRUS EN TOMATE (REDCAHOR, 1999 modificada por Rojas, 2000)

GRADO	SEVERIDAD (SÍNTOMAS)
0	No hay síntomas virales
1	Débil mosaico y corrugado de la lámina foliar en las hojas nuevas
2	Mosaico y corrugado de las hojas generalizado
3	Mosaico, corrugado y deformación de hojas y ramas
4	Enanismo y deformación severa

Las variables a evaluar fueron:

- Fluctuación población de mosca blanca
- Incidencia de la enfermedad
- Severidad de la enfermedad
- Número de racimos/planta
- Número de flores/planta
- Número de frutos/planta
- Peso de frutos kg/ha

3.4- Etapa de laboratorio

En esta parte se tomaran muestras de plantas de tomate infectado para confirmar la presencia de geminivirus en campo. Las pruebas se llevaron a cabo en el laboratorio de Biología Molecular de la UNA. Los pasos de dichas pruebas fueron los siguientes:

3.4.1- Extracción de ADN de tejido infectado con geminivirus

Tomamos las muestras en el campo, cortando las partes tiernas de las plantas infectadas y colocándolas en bolsas individuales marcadas con el nombre de cada variedad, luego en el laboratorio procedimos a pesar 0.2 g de cada muestra y los colocamos nuevamente en bolsas para agregarles 2000 µl de buffer (Tris 50 mM + EDTA 10 mM) y procedimos a macerar. Ya maceradas las muestras extrajimos 1500 µl y los pasamos a tubos eppendorf los que a continuación colocamos en la centrífuga (Type A 14 Jones) y centrifugamos por 10 min a 13000 rpm. Pasados los 10 min sacamos los tubos eppendorf de la centrífuga y extrajimos 50 µl del sobrenadante y los colocamos en un tubo PCR que luego procedimos a incubar en hielo por 30 min para que el ADN se adhiriera a las paredes del tubo. Pasado este tiempo lavamos los tubos utilizando 200 µl de buffer de lavado (Tris 50mM) repitiendo este proceso dos veces para cada tubo; posteriormente dejamos secar los tubos para extraer la humedad.

3.4.2- Preparar la PCR

Una reacción PCR convencional consta de Buffer, DNTP, Primer 1, Primer 2, Taq polimerasa, Agua y las muestras de ADN para un total de 50 µl. Nosotros trabajamos con el KITT (ReadyMix™ Taq PCR REACTION MIX WITH MgCl₂, SIGMA, P-4600) y constaba de Buffer, DNTP, Taq polimerasa y Agua; por lo cual necesitamos agregar 2.5 µl del Primer Av 494 y 2.5 µl del Primer Ac 1048 (los Primers cortan el ADN en sitios específicos, en este caso cortan para 570 pares de bases aproximadamente); para completar los 50 µl de la solución. Lista la solución colocamos los 25 µl en los tubos PCR con las muestras y los llevamos a la máquina PCR (TECHNE PROGENIE) y corrimos el programa a continuación detallado: Desnaturalización (94° centígrados, 2 min., 1 ciclo), Anexión (55° centígrados, 1 min., 35 ciclos), Extensión (72° centígrados, 2 min., 35 ciclos) y Extensión final (72° centígrados, 10 min., 1 ciclo).

La PCR (Reacción en cadena de polimerasas) es un procedimiento de laboratorio que amplifica ADN enzimáticamente. Esta técnica es capaz de producir millones de copias de una región específica de ADN. En esta se utilizan primers (iniciadores) que no son más que trozos cortos de ADN o ARN ligados a un ADN de cadena simple a partir del cual la polimerasa extiende una nueva cadena de ADN para producir una molécula doble.

3.4.3- Electroforesis

Electroforesis es la técnica de separación de moléculas cargadas en una matriz a la cual se le aplica un campo eléctrico. En este caso se realizó la electroforesis en gel de agarosa al 1% en el que se usó una matriz de agar altamente purificado que separa moléculas grandes de ADN o ARN; este gel tiene orificios en uno de los cuales se coloca un marcador con el cual nos damos cuenta del fragmento de ADN de las muestras y en otro la muestra o replica de ADN; cuyas proteínas a través de un campo eléctrico migran y pasan de negativo a positivo y se ubican en el gel de acuerdo a su peso molecular.

El procedimiento fue el siguiente: tomamos el gel de agarosa al 1%, lo colocamos en un molde (vienen de diferentes tamaños según el número de muestras) luego colocamos peines de forma horizontal para delimitar los canales u orificios y dejamos solidificar; cuando el gel estuvo sólido retiramos los peines seguidamente colocamos el molde con el gel en la cámara de electroforesis y agregamos buffer TBE hasta cubrir el gel. Para que los orificios del gel sean visibles se coloca un papel negro debajo de la cámara de electroforesis. Luego colocamos en el primer orificio el marcador (Lambda DNA/EcoR1 + Hind III MARKER) y en los siguientes 12 μ l de las muestras en el tubo eppendorf (10 μ l de la muestra del tubo PCR + 2 μ l de loading buffer o buffer de corrido. Para iniciar el proceso de electroforesis se cierra la cámara y se conecta a 100 voltios. Esta se deja conectada por aproximadamente 45 min.

3.4.3.1. Preparación del gel de agarosa al 1%

Para la preparación del gel de agarosa tomamos 400 ml de buffer TBE y le agregamos 4 g de agarosa (por cada 100 ml de buffer TBE se añaden 1 g de agarosa), luego mezclamos e introducimos al horno hasta que observamos la ebullición, momento en el que retiramos del horno mezclamos nuevamente y lo regresamos al horno. Esto se repite hasta que la agarosa se disuelve por completo; una vez que se disolvió le agregamos 20 μ l de bromuro de ethidium. Esta solución se guarda en el horno a una temperatura constante de 55° C.

3.4.4- Visualización de las bandas

Luego de correr el gel se procede a visualizar las bandas para confirmar la presencia de geminivirus, con ayuda de un equipo de luz ultravioleta (UVP transsiluminator). En este momento tomamos el molde con el gel lo llevamos al equipo de luz ultravioleta y dejamos caer con cuidado el gel directamente sobre el equipo enseguida encendemos el equipo y procedemos a visualizar.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1-Promedio de moscas blancas en las líneas evaluadas

El Análisis de varianza realizado para conocer la fluctuación poblacional de mosca blanca demuestra que existen diferencias significativas entre los materiales evaluados (P: 0.03) sin embargo en el caso de las fechas no se encontró diferencias significativas (P: 0.47) así mismo se encontró que la interacción fecha * línea no es significativa (P: 0.08) es decir que la presencia de las moscas blancas en las líneas no esta relacionado con las fechas de los muestreos (Anexo 1).

En Nicaragua la mayor incidencia de mosca blanca se presenta en la estación seca y muestra un incremento durante el veranillo o canícula (15 de julio - 15 de agosto) presentando su punto máximo a finales de febrero (CATIE, 1990). El semillero del ensayo fue establecido en diciembre y el transplante se realizó a finales de enero coincidiendo con la época en que hay incremento en las poblaciones de mosca blanca. En la figura 2 podemos observar el comportamiento de la mosca blanca en los diferentes materiales en los distintos muestreos realizados; así observamos que el mayor número de moscas lo presentó la variedad MTT-013 desde el primero de los muestreos, y el menor número de moscas lo presentó la línea TY-13 en relación con las otras líneas evaluadas.

Según Hilje (2001) el número promedio de mosca blanca está en dependencia de la dirección del viento debido a que su movimiento migratorio está determinado por éste y una vez en el cultivo se puede desplazar con facilidad por toda la parcela. Así al realizar la prueba de separación de Medias según Tukey para la variable mosca blanca observamos que la línea TY-13 obtuvo el menor promedio de adultos de mosca blanca por planta siendo la variedad MTT-013, la que obtuvo el mayor promedio de adultos de mosca blanca por planta (figura 3). El movimiento de la mosca blanca una vez en el cultivar es migratorio y su distribución se da por la preferencia que tenga por alguna de las variedades sembradas como se ha observado en campos de frijol en los que se cultivan de forma simultanea variedades criollas y mejoradas, en los cuales la mosca tiene preferencia por las variedades

criollas, atribuyéndose a la cantidad de azúcares en dichas variedades (Rojas, 2004, comunicación personal); por lo que la mayor presencia de adultos de mosca blanca en la variedad MTT-013 se debió a la preferencia de la mosca por dicha variedad.

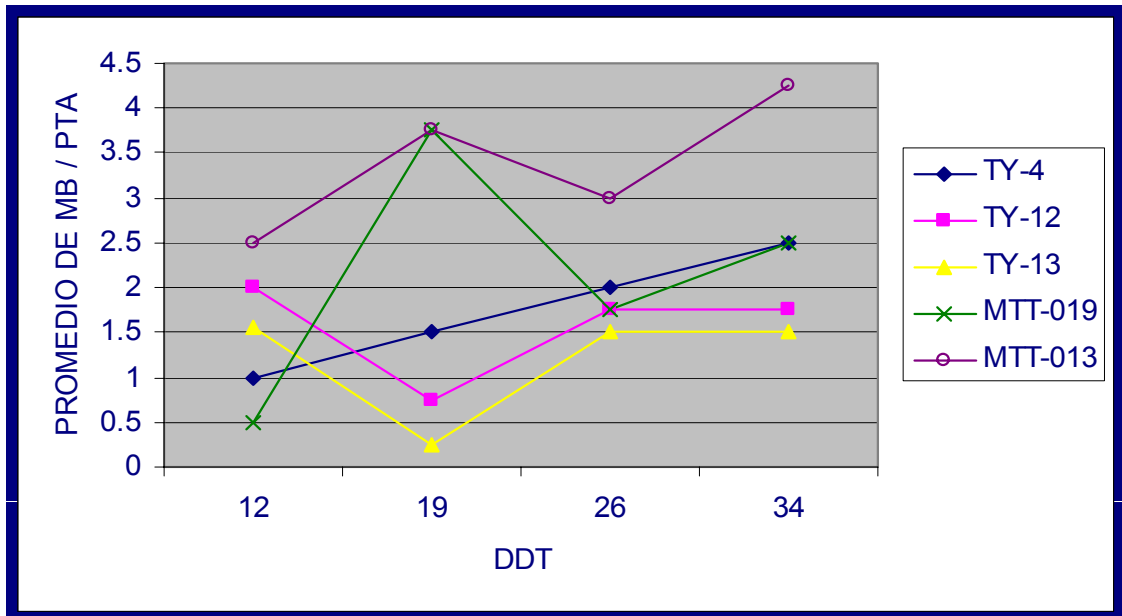


Figura 2. Fluctuación poblacional de mosca blanca en los materiales evaluados

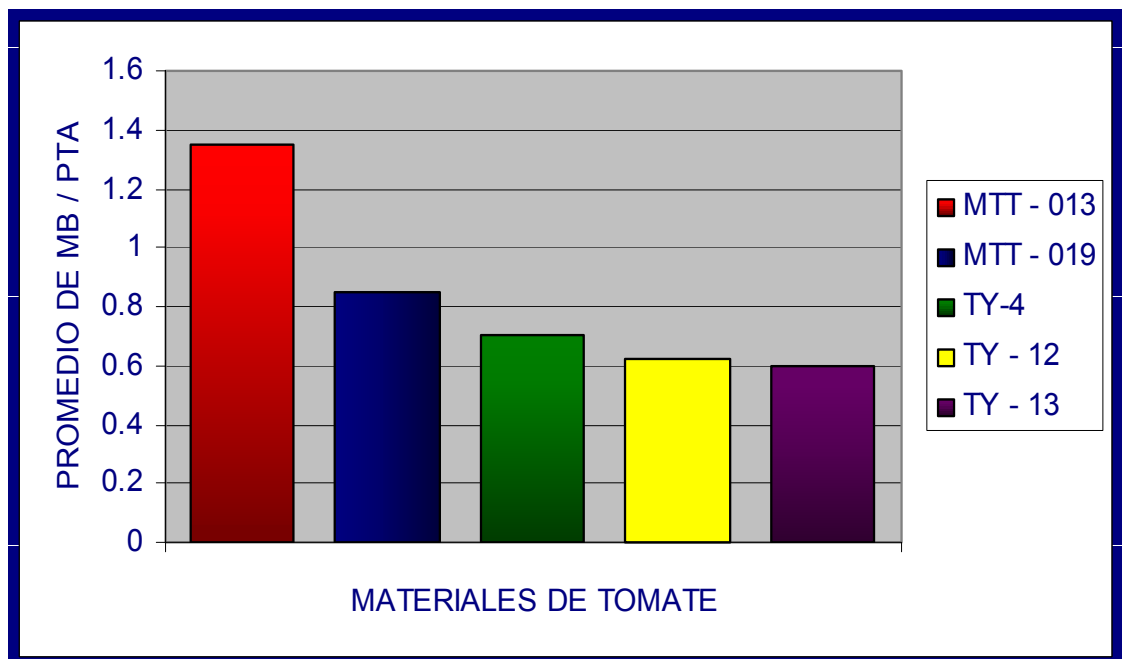


Figura 3. Promedio de mosca blanca por planta en los materiales evaluados

4.2- Incidencia de geminivirus sobre los materiales evaluados

El análisis de varianza que se realizó para conocer la incidencia de geminivirus en los materiales evaluados demuestra que hay diferencias altamente significativas entre fechas (P: 0.0001) de igual manera indica que existen diferencias entre los materiales (P: 0.0001), así también indico que la interacción fecha * línea resulto significativa (P: 0.02) (Anexo 2). Al realizar la separación de Medias según Tukey para la incidencia de geminivirus para los cinco materiales evaluados se encontró que existen diferencias estadísticas aún cuando los materiales no difieren mucho uno del otro pues todos expresaron síntomas de la enfermedad. La mayor incidencia del complejo se observó en el último muestreo a los 70 DDT y así la menor incidencia se presentó en el primer muestreo a los 19 DDT (Figura. 4). De igual forma la mayor incidencia se presentó en la variedad MTT-013 y en la MTT-019, así la menor incidencia la presentó la línea TY-4, seguida de la línea TY-13 y la TY-12 respectivamente (Figura. 5).

Es importante señalar que los primeros síntomas de la enfermedad por lo general solo aparecen varias semanas después de la inoculación del virus; así también es importante recordar que la dinámica de la enfermedad se observará siempre en aumento a medida que pase el tiempo (Bolaños, 1996). Sin embargo en observaciones realizadas en campo en Nicaragua durante varios años se puede decir que en los últimos años los primeros síntomas de la enfermedad aparecen sólo unos cuantos días después de la inoculación, esto debido a varios factores entre los que se pueden mencionar el surgimiento de nuevas razas virales producto de recombinaciones (Rojas, 2003, Comunicación personal). Esto se pudo constatar en un ensayo realizado en Santa Lucia, Boaco en el cual los síntomas de la enfermedad aparecieron una semana después del transplante aún cuando en semillero no se observo una alta presencia de mosca.

Podemos observar que al tomar los datos de incidencia los síntomas aparecen en todas las líneas de manera indistinta tanto en la que obtuvo mayor número de mosca como en la que obtuvo el menor número de mosca, asumiendo que las plantas fueron inoculadas en el mismo período. Corroborando que no se requiere de gran cantidad de adultos de mosca

para que tengamos presencia de la enfermedad lo cual es señalado por Rivas (1994) cuando dice que se ha demostrado que pocos adultos de mosca blanca son capaces de diseminar geminivirus rápidamente debido a la eficiencia que tiene como vector. Por este motivo en este trabajo omitimos la realización de un análisis de correlación para las variables mosca e incidencia de la virosis causada por geminivirus.

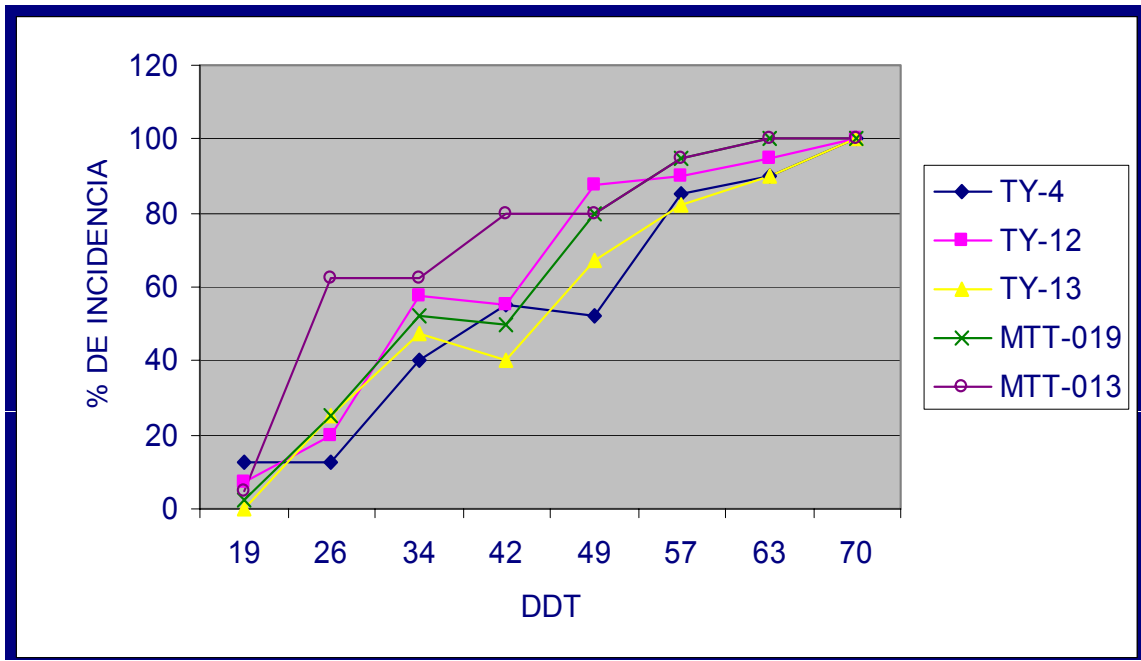


Figura 4. Porcentaje de incidencia de la enfermedad en los materiales evaluados

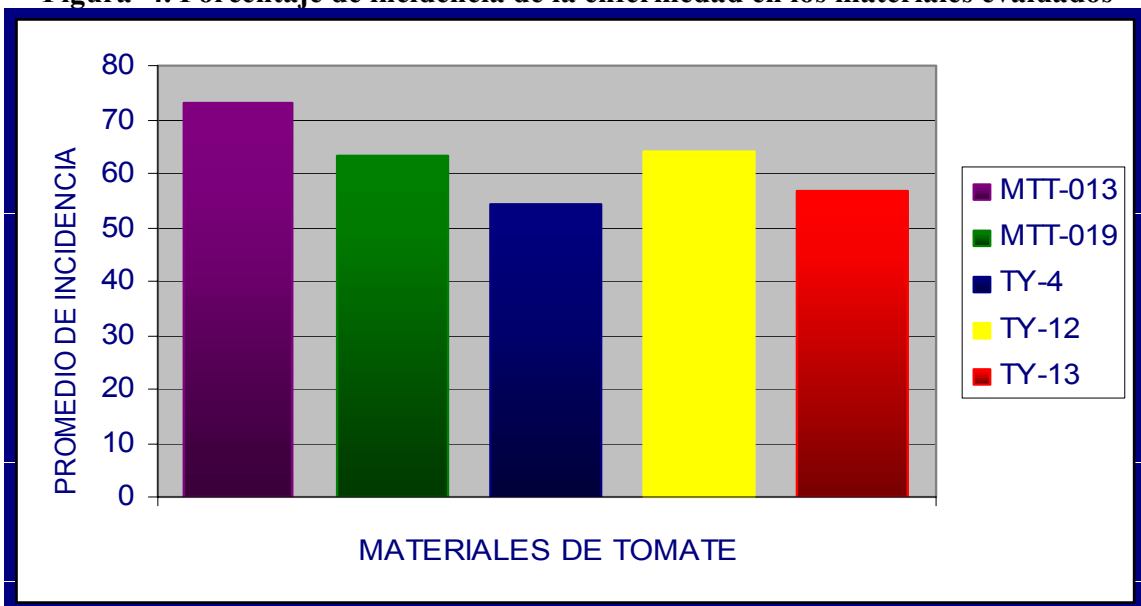


Figura 5. Porcentaje promedio de la incidencia de la enfermedad en los materiales evaluados

4.3- Severidad de los síntomas presentados por los materiales evaluados

Los resultados obtenidos del Análisis de varianza indican que existen diferencias altamente significativas entre fechas (P: 0.0001), así también indica que existen diferencias altamente significativas entre los materiales evaluados (P: 0.0003), en cambio la interacción fecha * línea resulto no significativa (P: 0.24) (Anexo 3), demostrando que la severidad de los síntomas presentados por los materiales no esta determinada por la fecha, asumiendo que la severidad de los síntomas esta determinado por el grado de tolerancia o susceptibilidad de cada material al ataque de geminivirus (Figura 6).

Según la figura 5 la fecha que obtuvo el menor porcentaje de severidad fue la fecha 1 correspondiente a los 42 DDT seguida de la 2 y así de manera progresiva hasta llegar a la 5 a los 70 DDT y en el caso de los materiales el mayor porcentaje de severidad se presenta en la variedad MTT-013, seguida de la MTT-019, obteniendo el menor porcentaje de severidad la línea TY-4, seguida de las líneas TY-13 y la TY-12 en el último muestreo. Recordemos que la incidencia y la enfermedad viral siempre se presentan de manera progresiva en el tiempo (Bolaños, 1996).

Al realizar la separación de Medias según Tukey se observa que hay diferencias estadísticas entre fechas así como entre materiales (Anexo.3) siendo la variedad MTT-013 la que tuvo mayor promedio de severidad y la línea TY-4 la que obtuvo el menor promedio de severidad seguida de la TY-13 (Figura. 7).

La variedad MTT-013 fue la que presentó mayor número de moscas, observándose también que esta presenta la mayor incidencia y severidad de la enfermedad y queda en evidencia que es una línea susceptible al ataque de geminivirus transmitidos por mosca blanca. Esto concuerda con que los primeros síntomas de infección viral en las plantas susceptibles se presentan sólo días después de la inoculación del virus y la severidad se expresa de manera progresiva solo en dependencia del grado de tolerancia de la variedad (Rojas, 2004, Comunicación personal). De igual forma cabe mencionar que la línea TY-4 a pesar de haber obtenido el mayor número de moscas con relación a la TY-12 y la TY-13 obtuvo el

menor porcentaje de severidad con relación a las mismas demostrando que es la variedad más tolerante a los geminivirus presentes en la zona de estudio (Figura. 7).

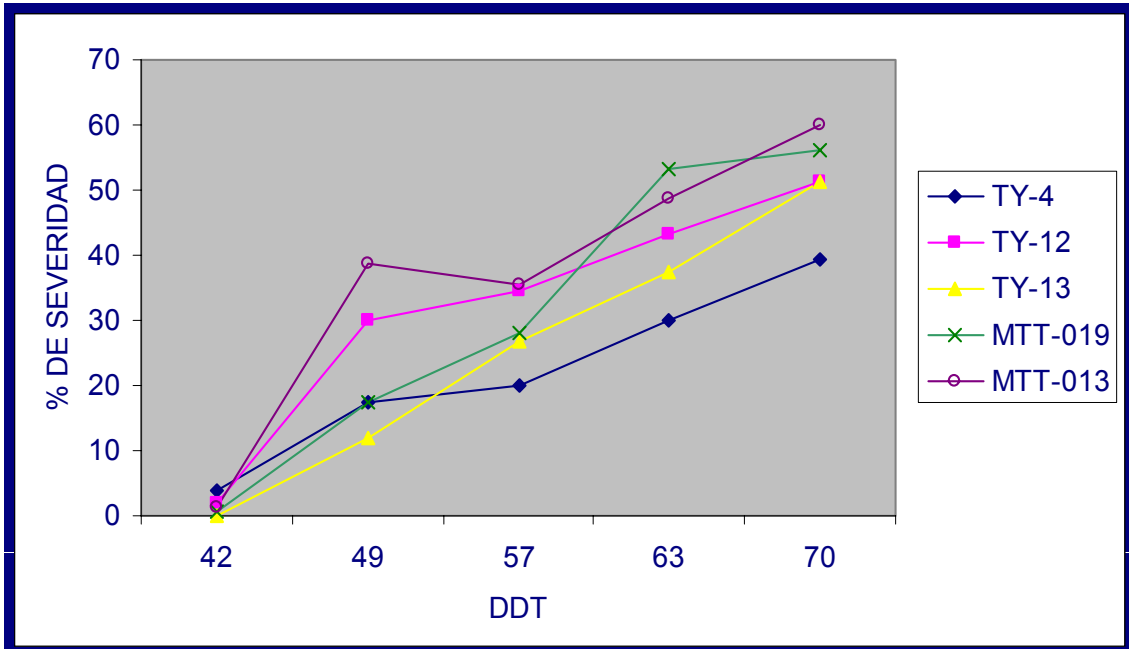


Figura 6. Porcentaje de severidad de la enfermedad causada por los geminivirus en los materiales evaluados

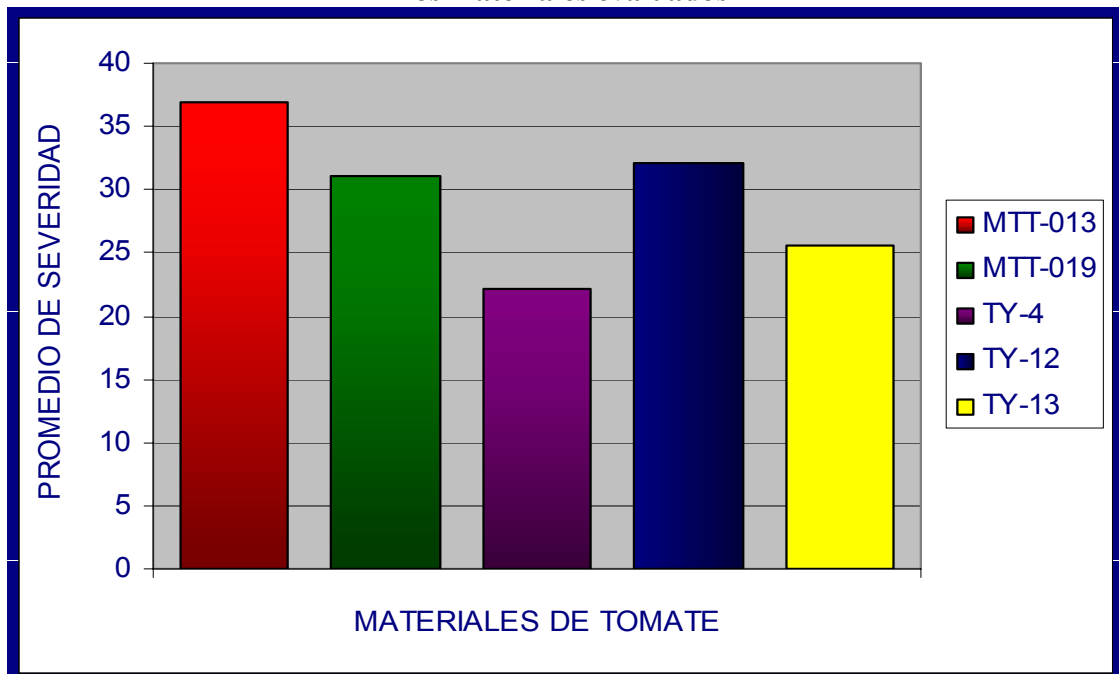


Figura. 7. Porcentaje promedio de la severidad de los síntomas causados por los geminivirus en los materiales evaluados

4.4- Datos agronómicos de rendimiento

4.4.1- Racimos florales por planta

El análisis de varianza que se realizó para la variable racimos florales demuestra que no hay diferencias significativas entre los materiales (P: 0.23). La separación de Medias según Tukey indica que no hay diferencias estadísticas (Anexo 4), sin embargo la variedad MTT-013 fue la que obtuvo el mayor número de racimos florales seguida de la MTT-019 y la línea TY-12, y el menor número de racimos florales lo obtuvieron las líneas TY-4 y TY-13 respectivamente (Figura 8).

El número de racimos florales y flores dependen de la variedad en las plantas sanas, sin embargo en las plantas infectadas con geminivirus se da una formación abundante de flores pero estas no llegan a cuajar y se produce un alto índice de abortos florales (Rojas, 2003, Comunicación personal). La formación de flores inicia cuando la planta cambia de la fase vegetativa a la reproductiva y esta determinado por las condiciones ambientales. La primera inflorescencia en las variedades indeterminadas se forma después de brotadas las primeras 7 o 10 hojas verdaderas de la planta (Huerres y Caraballo, 1998). Las inflorescencias en las variedades de crecimiento determinado se producen alternando cada una o dos hojas y generalmente son precoces y de porte bajo; en cambio en las de crecimiento indeterminado la alternancia de las inflorescencias es más espaciada y se dice que son más tardías y de porte bajo (Rodríguez *et al.*, 1997).

La variedad MTT-013 fue la que obtuvo el mayor número de racimos florales, aún cuando esta se vio severamente afectada por los geminivirus y TY-4 fue la línea que obtuvo el número de racimos florales más bajo siendo esta la menos afectada por la enfermedad lo cual nos demuestra que el número de racimos florales y el número de flores por racimo no esta determinado únicamente por la variedad; pues es característica de la enfermedad inducir a las plantas a tener muchos racimos y flores que no llegan a cuajar (Rojas, 2003 Comunicación personal).

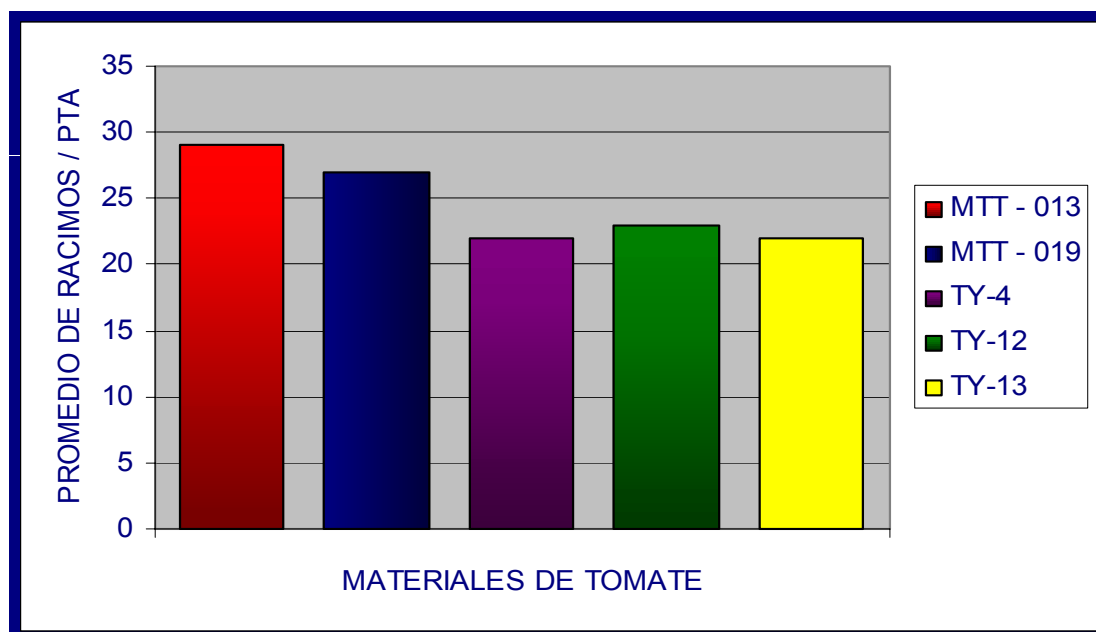


Figura 8. Promedio de racimos florales formados por los materiales afectados por geminivirus

4.4.2- Flores por planta

Para la variable flores el análisis de varianza demuestra que no hay diferencias significativas entre materiales ($P: 0.05$). Así también al realizar la separación de medias según Tukey el número de flores es igual estadísticamente en todos los materiales evaluados (Anexo 5) (Figura 9).

Aunque no se encontraran diferencias estadísticas en la figura podemos observar que el material con mayor número de flores fue la variedad MTT-013 que fue la que obtuvo el mayor número de racimos florales a pesar de ser la más severamente afectada por la enfermedad, igualmente la línea con menor número de frutos fue la TY-4 coincidiendo con que obtuviera el menor número de racimos florales. Poniendo de manifiesto que esta variable está determinada no solo por las características hereditarias que posee la variedad sino también por la tolerancia a la enfermedad.

Sabemos que las plantas de tomate susceptibles al ataque de plagas que causan alteraciones en su organismo como los geminivirus resultan pequeñas con las hojas arrugadas (crespo), botan las flores, sus frutos son pequeños, con mal sabor y en algunos casos no llegan a producir frutos (Rojas, 1992).

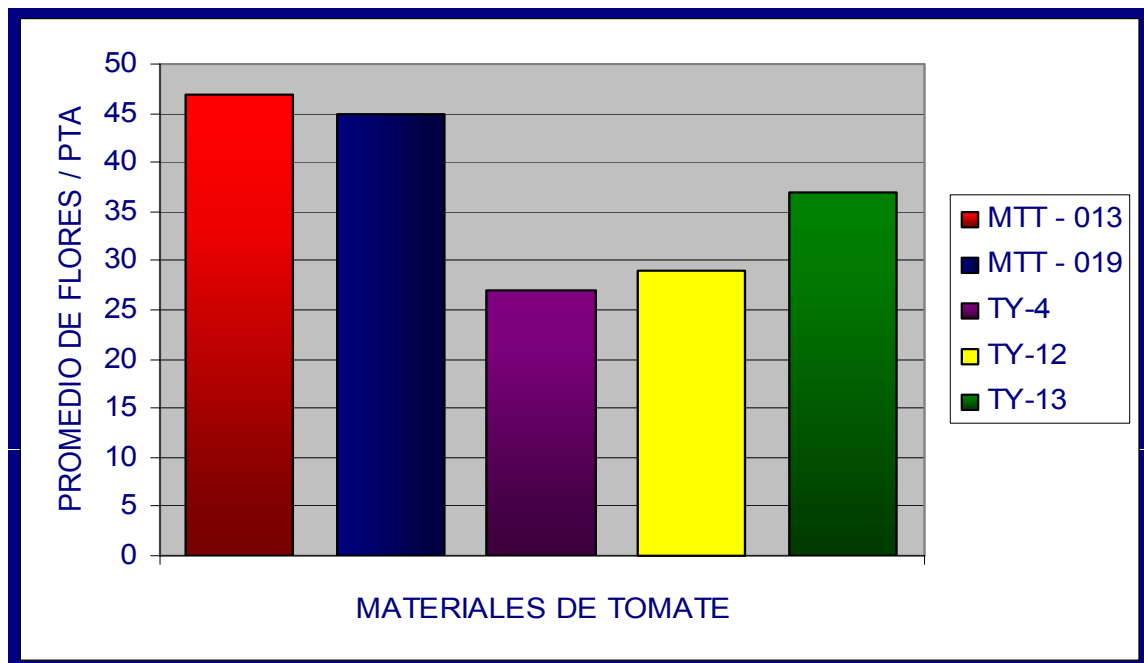


Figura 9. Promedio de flores formadas por los materiales afectados por geminivirus

4.4.3- Frutos por planta

Los resultados del análisis de varianza para la variable frutos demuestran que hay diferencias significativas entre los materiales ($P: 0.003$). Podemos decir que según la separación de medias Tukey hay diferencias entre algunos de los materiales (Anexo 6), siendo las líneas con mayor número de frutos la TY-12 y la TY-13 seguidas de la línea TY-4 y la variedad MTT-019. La menor producción de frutos la obtuvo la variedad MTT-013 (Figura. 10).

A pesar que las variedades MTT-013 y la MTT-019 tenían el mayor número de flores no fueron estas las que obtuvieron el mayor número de frutos; esto se debe a que las plantas

más susceptibles tienden a botar sus flores ante el ataque severo de las enfermedades que causan alteraciones en su organismo como las causadas por geminivirus (Rojas, 1992) es decir que no todas las flores llegan a formar fruto o forman frutos que no llegan a madurar, que quedan verdes y pequeños debido al ataque de estos (INTA, 1999).

Al respecto Álvarez y González (1984) expresan que la fructificación es un parámetro que define los rendimientos en los cultivares, en los cuales se combinan factores de importancia como la floración y el número de racimos florales los cuales no son determinantes pero si influyen en la fructificación.

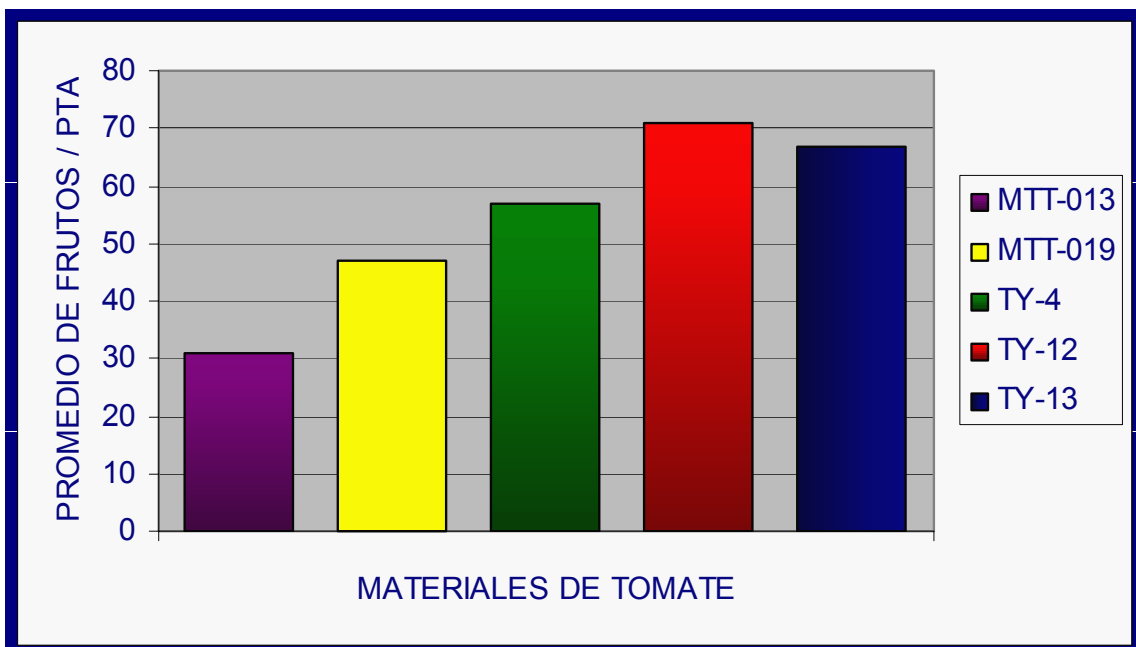


Figura 10. Promedio de frutos formados por los materiales afectados por geminivirus

4.4.4- Rendimientos en kg/ha

El análisis de varianza realizado para conocer los rendimientos de los materiales evaluados indica que no existen diferencias significativas ($P: 0.0001$) (Anexo 7). Siendo la línea TY-13 la que obtuvo los mayores rendimientos aún cuando no fuese esta línea la que obtuviera el número más alto de racimos florales, flores y frutos, demostrando así que es la línea con más potencial puesto que no solo es tolerante a los geminivirus sino que tiene altos

rendimientos. La variedad MTT-019 obtuvo también altos rendimientos aún cuando esta variedad se vio muy severamente afectada por los geminivirus y obtuviera un promedio bajo de frutos lo cual se debe a que los frutos tenían mayor volumen, al respecto Huerres y Caraballo (1998) expresan que los factores que determinan el rendimiento pueden manifestarse en características morfológicas, pero también en otras como la resistencia a enfermedades y plagas, o a la adaptación a factores ambientales. Pues en cultivares avanzados de tomate los frutos son de mucho mayor tamaño que en los primitivos y la porción comestible ocupa proporcionalmente mayor espacio, siendo menor el número de frutos por planta lo cual no influye en los rendimientos ya que este se encuentra determinado por el mayor volumen del fruto. La línea TY-4 junto con la variedad MTT-019 y la línea TY-12 obtuvieron rendimientos estadísticamente iguales siendo la variedad MTT-013 la que obtuviera el más bajo rendimiento y el menor número de frutos a pesar de haber obtenido los mayores promedios de racimos florales y flores dejando en evidencia que es una línea susceptible al ataque de los geminivirus transmitidos por mosca blanca, pues una de las características de la enfermedad es provocar desordenes fisiológicos tan fuertes que inducen a las plantas a tener muchos racimos y flores que no llegan a cuajar (Rojas, 2003 Comunicación personal). La línea MTT-013 hace unos años fue liberada por el INTA y la Misión técnica de China Taiwán y era considerada como tolerante a geminivirus, el cambio en su tolerancia a estos se debe atribuir a la evolución del complejo mosca blanca – geminivirus (Figura. 11).

En estudios realizados con 5 líneas TY en el Centro Nacional de Investigación Agropecuaria (CNIA) se obtuvieron resultados similares en cuanto a rendimientos. De las TY evaluadas la TY-13 obtuvo el mayor rendimiento seguida de las TY-4 y la TY-12; obteniendo la TY-3 y la TY-15 los rendimientos más bajos (Chavarría, 2003. Datos sin publicar).

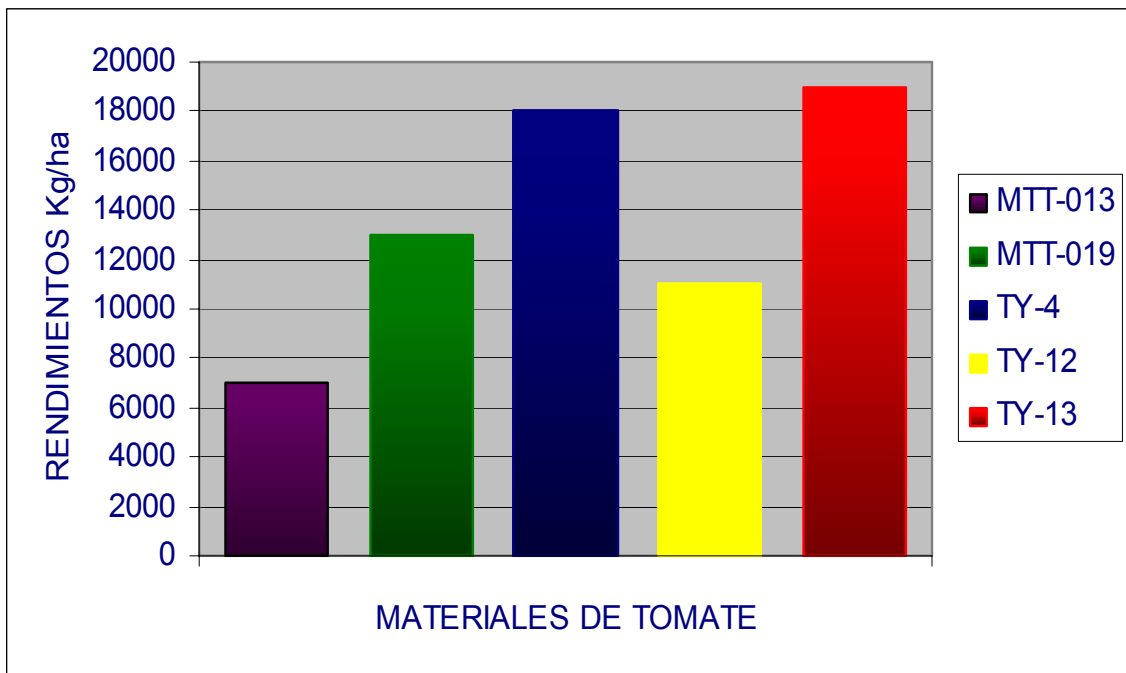


Figura 11. Rendimientos en kg/ha obtenidos por los materiales afectados por la enfermedad causada por geminivirus

4.5- Etapa de laboratorio

Las pruebas PCR y el análisis electroforético realizados a las muestras de tomate, dan positivo comprobando la presencia de geminivirus.

En la foto (Anexo. 8) observamos los resultados del análisis electroforético del ADN amplificado mediante la prueba de reacción en cadena de polimerasas (PCR) en donde el primer carril pertenece al marcador y los carriles restantes a las muestras de tomate constatando la presencia de geminivirus en los materiales evaluados en campo.

V. CONCLUSIONES

1. La mosca blanca presento preferencia por la variedad MTT-013 la cual obtuvo el mayor número de adultos de moscas y la que presentara el menor número de adultos fue la línea TY-13.
2. Las líneas de tomate TY-13 y TY-4 presentaron más tolerancia al complejo mosca blanca – geminivirus obteniendo una incidencia promedio del 55.94% y del 56.56% respectivamente y un promedio de severidad de 22.12% la TY-4, seguida de la TY-13 con 25.5% durante todo el ciclo del cultivo, siendo la variedad MTT-013 la que resulto ser más susceptible al complejo con una incidencia de 73.12% y una severidad de 36.87%.
3. Los mejores rendimientos fueron obtenidos por la línea TY-13 con 19,000 kg/ha siendo esta una de las que obtuviera menor incidencia del complejo mosca blanca-geminivirus así como el menor promedio de severidad de los síntomas provocados por los geminivirus. Habiendo obtenido los rendimientos más bajos la variedad MTT-013 con 7,000 kg/ha.
4. Según las pruebas hechas en laboratorio las líneas evaluadas estaban infectadas con geminivirus.

VI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda el uso de las líneas TY-13 y TY-4 que son tolerantes al complejo mosca blanca - geminivirus y cuyos rendimientos son mejores que los de las variedades MTT que son usadas comercialmente por los productores.
2. Se recomienda seguir evaluando las líneas TY-13 y TY-4 en otros ciclos de siembra para conocer comportamiento ante diferentes presiones del vector.
3. Realizar trabajos investigativos de forma continua en los que se incluya la identificación de geminivirus en vista de su rápida evolución y la necesidad de nuevos métodos de lucha en contra de las enfermedades virales.
4. Integrar la participación de productores de manera activa en la realización de pruebas de nuevas variedades tolerantes a los geminivirus transmitidos por mosca blanca.

VII. BIBLIOGRAFÍA

Alvarenga, D; Anderson, P. y Guharay, F. 1998. Estudio en laboratorio sobre la tasa de mortalidad, tiempo de generación reproducción de Bemisia tabaci (Gennadius) en tomate en Memoria Comité Internacional de Manejo Integrado de Plagas. Pág.201.

Bolaños, A. 1996. Germoplasma en Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. Ed. Luko Hilje. Turrialba, Costa Rica. CATIE. Pág.42-49.

Ramírez, P. y Bustamante, R. 1996. Identificación de geminivirus en Metodología para el estudio y manejo de moscas blancas y Geminivirus. Ed. Luko Hilje. Turrialba, Costa Rica. CATIE. Pág.30-40.

Caballero Rafael. 1996. Identificación de moscas blancas en Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. Ed. Luko Hilje. Turrialba, Costa Rica. CATIE. Pág.1-9.

CATIE. 1990. Guía para el manejo integrado del cultivo de tomate. CATIE. Turrialba, Costa Rica. Serie Técnica. No. 151. Pág. 138.

Chavarría, M. 2002. Evaluación de cinco líneas de tomate (*Lycopersicum esculentum Mill*) en relación al complejo mosca blanca – geminivirus bajo infecciones naturales en la zona del Pacífico de Nicaragua. Tesis (Ing. Agrónomo) Managua, Nic. UNA Fagro. Pág. 30.

Cruz, R; Alvarenga, F. 1996. Evaluación de nueve variedades de tomate de consumo fresco (*Lycopersicum esculentum Mill*) en el valle de Sébaco, Matagalpa. Tesis de Ing. Agrónomo. Fagro. Pág. 5-38.

Álvarez, M. y González, M. 1984. Análisis de correlación entre diferentes variables morfológicas y el peso de del fruto en un grupo de variedades de tomate. INCA. Vol. 6. N° 3. Revista del mes La Habana, Cuba. Pág. 579 – 588.

Gómez, D. 1992. Las moscas blancas (Homóptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. CATIE, Turrialba, Costa Rica. Pág.54.

Hilje, L. 1996. Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. Pág. vii-xv.

Hilje, L. 2001. Manejo Integrado de Plagas, Turrialba, Costa Rica. N° 61. Pág. 69-80.

Huerres, C. y Caraballo, N. 1998. Cultivo del tomate y pimiento. In. Horticultura, Puebla y educación. La Habana, Cuba. Pág. 1-30.

INEC. 1995. VII. Censo de población y III de vivienda.

INETER. 2003. Hoja topográfica Tecolostote serie 3052-1.

INTA. 1999. Guía tecnológica de tomate.

INTA CNIA y Misión Técnica de la República de China (TAIWÁN). 2002. Proyecto Investigación y Desarrollo. Validación de Tomate Variedad TY-13 Nicaragua.

Lazarowitz, S. 1992. Geminiviruses: Genome structure and gene function. Critical Reviews in Plant Sciences. 11: 327-349.

Novat, N; Pichersky, R; Zeidam, M; Zamir, D; Czosnek, H. 1991. Tomato yellow leaf curl virus: A whitefly – transmitted geminivirus with a single genomic component. Virology. 185: 151-161.

Rivas, G. 1994. Geminivirus transmitidos por mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn). Boletín Informativo. CATIE, Alajuela. Costa Rica. N° 33. Pág.1-2.

Rodríguez, R. Rodríguez, J. y Medina, J. 1997. Cultivo del tomate 2ª edición. Ediciones Mundi- Prensa. Págs. 13-20.

Rojas, A. Kvarnheden, A. y Valconen, J. P. T. 2000. Geminiviruses Infecting Tomato Crops in Nicaragua. Plant. Dis. 84; 843-846.

Rojas, A. 1992. Virosis en tomate. Generalidades. En jornadas científicas del cultivo del tomate. (9 octubre 1992 Managua) (Memoria) Managua, Nicaragua. Pág. 4

Sponanjel y Fuñez. 1994. Estrategias probadas del manejo del complejo fitosanitario Mosca/blanca/ Virus Gemini en la producción de tomate. La Lima, 1994 (Honduras FHIA).

Varela, G. 1995. Reporte de Nicaragua. En Memoria IV Taller Latinoamericano sobre moscas blancas y geminivirus. R. Caballero y A. Pitty (Eds). Ceiba (Honduras). 36 (1): 25-27.

Zúñiga, C y Ramírez, P. 2002. Manejo integrado de plagas y agroecología. Turrialba, Costa Rica. N° 64. Pág. 25-33.

VIII. ANEXOS

Anexo 8.1. Análisis de varianza para Fluctuación poblacional de mosca
blanca

F de V	gl	SC	CM	Fc	Pr >F
Bloque	3	6.34280152	2.13093384	8.91	0.0001
Fecha	3	0.61385215	0.20461738	0.86	0.4707
Error (a)	9	3.30475269	0.36719474	1.53	0.1630
Línea	4	2.67196098	0.66799025	2.79	0.0365
Fecha*línea	12	4.99430800	0.41619233	1.74	0.0875
Error (b)	48	11.4836334			
RD = 0.61		CV = 33.02			

TUKEY

Categoría estadística	Líneas	Medias
A	MTT-013	3.3750
A B	MTT-019	2.1250
B	TY-4	1.7500
B	TY-12	1.5625
B	TY-13	1.5000

TUKEY

Categoría estadística	Fecha	Medias
A	4	2.50
A	3	2.00
A	2	2.50
A	1	1.75

Anexo 8.2. Análisis de varianza de la incidencia del complejo mosca blanca -
geminivirus

F de V	gl	SC	CM	Fc	Pr >F
Bloque	3	5686.875	1895.625	10.69	0.0001
Fecha	7	156724.375	22389.196	126.21	0.0001
Error (a)	21	20758.125	988.4821	5.57	0.0001
Línea	4	6208.75	1552.1875	8.75	0.0001
Fecha*línea	28	8841.25	315.7589	1.78	0.0207
Error (b)	96	17030	177.3958		
Total	159	215249.375			
R ² = 0.92		CV = 21.28			

TUKEY

Categoría estadística	Líneas	Medias
A	MTT-013	73.125
AB	TY-12	64.06
B	MTT-019	63.125
B	TY-4	56.56
B	TY-13	55.94

TUKEY

Categoría estadística	Muestras	Medias
A	8	100
A	7	95
A	6	89.5
AB	5	73.5
BC	4	56
BC	3	52
CD	2	29
D	1	5.5

Anexo 8.3. Análisis de varianza de la severidad de los síntomas presentados por las líneas evaluadas

F de V	gl	SC	CM	Fc	Pr >F
Bloque	3	444.30128	148.100427	1.36	0.2631
Fecha	4	29667.875	7416.96875	68.20	0.0001
Error (a)	12	4346.0112	362.167602	3.33	0.0010
Línea	4	2626	671.5	6.17	0.0003
Fecha*línea	16	2213.25	138.140625	1.27	0.2461
Error (b)	60	6525.3125	108.755208		
Total	99	45879.75			
R ² = 0.85		CV = 35.29			

TUKEY

Categoría estadística	Líneas	Medias
A	MTT-013	36.875
A B	TY-12	32.125
A B C	MTT-019	31.125
B C	TY-13	25.500
B C	TY-4	22.125

TUKEY

Categoría estadística	Muestras	Medias
A	5	51.625
A	4	42.500
B	3	29.000
B	2	23.125
C	1	1.500

Anexo 8.4. Análisis de varianza para el número de racimos

F de V	gl	SC	CM	Fc	Pr >F
Bloque	3	3412.390	1137.4733	11.10	0.0009
Línea	4	668.548	167.1370	1.63	0.2300
Error	12	1229.580	102.4650		
Total	19	5310.518			
R ² = 0.76 CV = 20.78					

TUKEY

Categoría estadística	Líneas	Medias
A	MTT-013	57.85
A	MTT-019	53.15
A	TY-12	45.10
A	TY-13	43.95
A	TY-4	43.40

Anexo 8.5. Análisis de varianza para el número de flores

F de V	gl	SC	CM	Fc	Pr >F
Bloque	3	1176.408	392.136	0.96	0.4418
Línea	4	5135.488	1283.872	3.15	0.0548
Error	12	4886.992	407.24933		
Total	19	11198.888			
R ² = 0.56		CV = 27.32			

TUKEY

Categoría estadística	Líneas	Medias
A	MTT-013	93.45
A	MTT-019	90.35
A	TY-13	73.00
A	TY-12	58.15
A	TY-4	54.35

DUNCAN

Categoría estadística	Líneas	Medias
A	MTT-013	93.45
A B	MTT-019	90.35
A B C	TY-13	73.00
B C	TY-12	58.15
C	TY-4	54.35

Anexo 8.6. Análisis de varianza para el número de frutos

F de V	gl	SC	CM	Fc	Pr >F
Bloque	3	4619.392	1539.79733	2.72	0.0911
Línea	4	16789.940	4197.485	7.41	0.0030
Error	12	6794.588	566.215667		
Total	19	28203.92			
R ² = 0.75		CV = 21.79			

TUKEY

Categoría estadística	Líneas	Medias
A	TY-12	142.85
A	TY-13	134.95
A B	TY-4	111.60
A B	MTT-019	93.90
B	MTT-013	62.70

Anexo 8.7. Análisis de varianza para el rendimiento

F de V	gl	SC	CM	Fc	Pr >F
Bloque	3	4.96	1.65	1.98	5.04
Línea	4	17.11	4.28	5.16	5.50
Error	12	10	0.83		
Total	19	32.07			

TUKEY

Categoría estadística	Líneas	Medias
A	TY-13	4.75
A	TY-4	4.5
A	MTT-019	3.25
A	TY-12	2.75
A	MTT-013	2.5

Anexo 8.8. Resultados del análisis electroforético

