

**CARACTERIZACION BIOLOGICA DE UN VIRUS
EN TOMATE DE ARBOL (*Solanum betaceum* [Sendt.]
PRESENTE EN EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO**

**JESUS DARIO ARTURO BRAVO
FRANCISCO RENE GOYES PAZOS**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS
PROGRAMA DE INGENIERIA AGRONOMICA
PASTO - COLOMBIA**

2003

**CARACTERIZACION BIOLOGICA DE UN VIRUS
EN TOMATE DE ARBOL (*Solanum betaceum* [Sendt.])
PRESENTE EN EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO**

**JESUS DARIO ARTURO BRAVO
FRANCISCO RENE GOYES PAZOS**

**Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al título de
INGENIERO AGRONOMO**

**Presidente de Tesis
CARLOS BETANCOURTH GARCIA I.A., M.Sc.**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS
PROGRAMA DE INGENIERIA AGRONOMICA
PASTO-COLOMBIA**

2003

“Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado son responsabilidad exclusivas de sus autores. Artículo 1º del Acuerdo No. 324 de Octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño”.

Nota de Aceptación

San Juan de Pasto, Abril de 2003

A

Dios

Mis padres

Mi esposa

Mi hijo

Mis hermanos

Mi tío Manuel

Mi primo Manuel Fernando

Mis amigos

Jairo Velasco y Harold Jojoa

Jesús Dario Arturo B.

A

Dios

Mis padres

Mis hermanos

Mis sobrinos

David, Daniel, Sebastián, Pablo Andrés y Gabriela

Mis amigos

Jairo Velasco, Harold Jojoa y Orlando Charfuelan

Rene Goyes Pazos

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

Carlos Arturo Betancourth, Ingeniero Agrónomo M. Sc. Docente Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño.

Benjamin Sañudo Sotelo. Ingeniero Agrónomo. Docente Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño.

Hernando Criollo Escobar. Ingeniero Agrónomo M. Sc. Docente Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño.

Luis Alfredo Molina. Ingeniero Agrónomo M. Sc. Docente jubilado Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño.

Tito Bacca. Ingeniero Agrónomo M. Sc. Docente Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño.

Miguel Angel Viveros Zarama. Ingeniero Agrónomo. Docente Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño.

Facultad de Ciencias Agrícolas Universidad de Nariño.

Todas aquellas personas que en una u otra forma contribuyeron a la realización del presente trabajo.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCION	21
1. MARCO REFERENCIAL	23
1.1 ENFERMEDADES CAUSADAS POR VIRUS EN TOMATE DE ARBOL (<i>Solanum Betaceum</i> [Sendt.]	23
1.1.1 Virosis del mosaico del Valle de Sibundoy	23
1.1.2 Virosis del tomate de árbol	24
1.1.3 Mosaico común del tomate de árbol	25
1.1.4 Enfermedad de etiología viral en cultivos de tomate de árbol en el Valle del Cauca	25
1.2 DEFINICION DE VIRUS	26
1.3 IMPORTANCIA ECONOMICA DE LOS VIRUS	
FITOPATOGENOS	27
1.4 METODOS DE INVESTIGACION EN VIROLOGIA	28
1.4.1 Transmisión mecánica	28
1.4.2 Transmisión por insectos	29
1.4.3 Transmisión por semilla	30
1.5 PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS DE LOS VIRUS	30

1.5.1	Punto final de dilución del virus	30
1.5.2	Longevidad <u>in vitro</u>	31
1.5.3	Punto termal de inactivación	31
2.	DISEÑO METODOLOGICO	33
2.1	LOCALIZACION	33
2.2	FUENTE DE INOCULO	33
2.3	MULTIPLICACION DE POTENCIALES PLANTAS	
	INDICADORAS	36
2.4	METODOLOGIA EXPERIMENTAL	36
2.5	TRANSMISION MECANICA	37
2.6	TRANSMISION POR INSECTOS	38
2.7	TRANSMISION POR SEMILLA	39
2.8	DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERISTICAS	
	FISICO-QUIMICAS DEL VIRUS	40
2.8.1	Punto final de dilución del virus del tomate de árbol	40
2.8.2	Longevidad <u>in vitro</u> del virus del tomate de árbol	41
2.8.3	Punto termal de inactivación del virus del tomate de árbol	41
2.9	IDENTIFICACION DEL VECTOR	42
2.10	PRUEBAS DE PATOGENICIDAD	42
2.11	MICROSCOPIA ELECTRONICA	43
3.	PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	44
3.1	TRANSMISION MECANICA Y RANGO DE HOSPEDANTES	44
3.2	TRANSMISION POR AFIDOS	54

3.3	IDENTIFICACION DEL VECTOR	60
3.4	TRANSMISION POR SEMILLA	61
3.5	PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS DEL VIRUS DEL TOMATE DE ARBOL	61
3.6	PRUEBAS DE PATOGENICIDAD	66
3.7	MICROSCOPIA ELECTRONICA	68
4.	CONCLUSIONES	70
5.	RECOMENDACIONES	71
	BIBLIOGRAFIA	72

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Eficiencia de transmisión mecánica del virus en diferentes especies de plantas, con Buffer fosfato a 0,1 M y diferentes pH.	49
Cuadro 2. Eficiencia de transmisión mecánica del virus en diferentes Especies de plantas con Buffer fosfato a pH 7,0 y diferentes concentraciones.	50
Cuadro 3. Eficiencia de transmisión mecánica en tomate de árbol y tabaco con Buffer fosfato 0,1 M. y pH 7,0.	51
Cuadro 4. Transmisión del virus por el áfido <i>Myzus persicae</i> en grupos de 10 insectos, en diferentes especies de plantas con un período de inoculación de tres minutos, un período de ayuno de 10 minutos y diferentes períodos de adquisición.	55
Cuadro 5. Transmisión del virus por el áfido <i>Myzus persicae</i> en grupos de 10 insectos, en diferentes especies de plantas con un período de adquisición de tres minutos, un período de ayuno de 10 minutos y diferentes períodos de inoculación.	56
Cuadro 6. Eficiencia de transmisión del virus del tomate de árbol por el áfido <i>Myzus persicae</i> en grupos de 1, 3, 5 y 10 insectos por planta.	57

Cuadro 7. Punto final de dilución del virus en tomate de árbol.	62
Cuadro 8. Punto termal de inactivación del virus en tomate de árbol.	63
Cuadro 9. Longevidad <u>in vitro</u> del virus del tomate de árbol.	64

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Síntomas registrados en plantas de tomate de árbol bajo condiciones de campo.	35
Figura 2. Síntomas registrados en plantas de tomate de árbol, bajo condiciones de invernadero, a partir de transmisión mecánica.	46
Figura 3. Síntomas registrados en invernadero en plantas de tabaco a partir de transmisión mecánica.	52
Figura 4. Síntomas registrados en tomate de árbol bajo condiciones de invernadero a través de transmisión por insectos.	58
Figura 5. Curva del Punto final de dilución, del punto final de inactivación y la longevidad <u>in vitro</u> .	65
Figura 6. Síntomas obtenidos a través de transmisión mecánica de tabaco a tomate de árbol.	67
Figura 7. Partícula del virus en tomate de árbol observada mediante microscopio electrónico de transmisión.	69

GLOSARIO

CARBORUNDUM: abrasivo utilizado en virología para causar laceraciones.

CEPA: variación genética de un patógeno.

ENMASCARAR: pérdida temporal de un síntoma por condiciones ambientales.

ETIOLOGÍA: estudio de la causa de una enfermedad.

INOCULO: mínima estructura de un patógeno capaz de iniciar una enfermedad.

LACERAR: causar heridas mediante el uso de un abrasivo.

LONGEVIDAD IN VITRO: tiempo en que un virus permanece infectivo fuera del hospedante (Conservado in vitro).

MACERAR: moler tejido vegetal con la ayuda de un mortero.

POTYVIRUS: género que agrupa virus con partículas largas y flexuosas, transmitidas por áfidos.

PUNTO FINAL DE DILUCION: concentración mínima a la cual un virus todavía es infectivo.

PUNTO TERMAL DE INACTIVACION: temperatura a la cual un virus ya no es infectivo.

TRANSMISIÓN: paso de un patógeno de una planta enferma a una planta sana.

VECTOR: organismo capaz de transmitir un agente patógeno donde la diseminación de la enfermedad depende de él.

VIRUS: patógeno constituido por ácido nucleico y proteína.

RESUMEN

En la localidad de San Juan, municipio de Ipiales, departamento de Nariño, se detectó una enfermedad de etiología viral atacando cultivos de tomate de árbol, los cuales manifestaban síntomas como clorosis intervenales, mosaicos, deformación de hojas y frutos, manchas aceitosas y necrosamiento de ramas en estados avanzados de la enfermedad.

Todos los síntomas se recuperaron mediante inoculación mecánica. La eficiencia de transmisión mecánica de tomate a tomate fue siempre superior al 80%, y las plantas empezaban a manifestar síntomas después de 15 días de ser inoculadas, en pruebas de tomate a tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) la eficiencia fue del 44,44%, y se presentaron síntomas de clorosis y amarillamientos generalizados en todas las hojas, los cuales aparecieron a los 10 días después de la inoculación.

En plantas de cenizo rojo (*Chenopodium amaranticolor* Coste y Reyn), quinua (*Chenopodium quinua* L.), globitos (*Gomphrena globosa* L., Globe), tabaquillo (*Nicotiana bentamiana* Domin), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), lulo (*Solanum quitoense* L.), papa (*Solanum andigenum* L.), uvilla (*Physalis peruviana* L.), ají rocoto (*Capsicum pubescens* L.), pimentón (*Capsicum annum* L.), tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum* Mill) no se presentaron síntomas.

Tampoco se presentó transmisión del virus por semilla. Sin embargo, sí se transmite por áfidos de la especie *Myzus persicae*, con una eficiencia de transmisión de 5,5%; 16,66%; 38,88% y 44,44% utilizando grupos de 1, 3, 5 y 10 insectos respectivamente.

En cuanto a las propiedades físico-químicas del virus, el punto final de dilución estuvo entre 10^{-4} y 10^{-5} , el punto termal de inactivación fue de 59 °C y la longevidad in vitro fue de 2 días. Observaciones al microscopio electrónico de transmisión de tejido sintomático revelaron la presencia de partículas largas de 800 nm.

ABSTRACT

Virus infecting tree tomato at Ipiales (Nariño) locality was found associated to symptoms of interveinal Chlorosis, mosaic, leaf and fruit distortion, spot oily, and necrosis of breach when the disease is terminal.

All symptoms was recovered by mechanical inoculation. The efficiency of transmission by it method was ever more 80% of tree tomato to tree tomato and the plants showed symptoms after of 15 days of inoculation.

In assays of tree tomato to tabacco the efficiency was 44,44% and symptoms of chlorosis and yellowing in leafs was presented. After of ten days of inoculation. No transmission was obtained from tree tomato to *Chenopodium amaranticolor*, *Chenopodium quinoa*, *Gomphrena globosa*, *Nicotiana bentamiana*, *Phaseolus vulgaris*, *Solanum quitoense*, *Solanum andigenum*, *Physalis peruviana*, *Capsicum pubescens*, *Capsicum annum*, *Lycopersicum esculentum*.

Transmission seed not was possible. The efficiency for vector transmission using aphid *Myzus persicae* was 5,5%; 16,66%; 38,88% and 44,44% in assays wiht 1, 3, 5 and 10 insects respectively.

Dilution end point was between 10^{-4} and 10^{-5} , longevity in vitro was two days, and inactivation thermal point was 59 °C. Observation of symptomatic foliar tissue of tree tomato under transmission electron microscope revealed flexuous rods 800 nm particles in the cytoplasm.

INTRODUCCION

El tomate de árbol (*Solanum betaceum* [Sendt.]), es uno de los cultivos de gran importancia económica en diferentes regiones del país, se cultiva en los departamentos de Antioquia, Boyacá, Caldas, Cauca, Cundinamarca, Valle y, en menor escala, en Nariño, ya que estas regiones poseen buenas condiciones agroecológicas para obtener producciones de calidad de la fruta para el mercado interno y en los últimos años como fruta de exportación a países de Europa y Asia¹.

En el departamento de Nariño se cultivan aproximadamente unas 300 hectáreas por pequeños agricultores, siendo una fuente importante dentro de sus ingresos. El cultivo de tomate presenta una serie de problemas sanitarios que dificultan su producción y causan mermas importantes en el rendimiento, además muchos de ellos son desconocidos por los agricultores y los programas de manejo implantados para los mismos, a menudo son inadecuados.

En los últimos años un nuevo disturbio de etiología viral se viene presentando en los municipios del sur del departamento, afectando severamente la producción y

¹ BERNAL, Jorge y TAMAYO, Pablo. Enfermedades del cultivo de tomate de árbol en Antioquia. Investigaciones Agrícolas, 1997. p. 4.

hasta el momento no se dispone de medidas de manejo adecuadas para el problema en el cultivo, la enfermedad se caracteriza por manifestar síntomas como presencia en las hojas de manchas aceitosas, clorosis, mosaicos; de igual manera se presentan distorsiones en color, tamaño y forma de hojas y frutos, haciendo perder aceptación del producto en el mercado.

Teniendo en cuenta estos antecedentes se realizó el presente trabajo con los siguientes objetivos:

1. Determinar el tipo de transmisión: mecánica, insectos y semilla.
2. Determinar las propiedades físico-químicas del virus: PFD (Punto final de dilución del virus), LIV (Longevidad in vitro del virus), PTI (Punto termal de inactivación del virus).
3. Determinar algunas plantas indicadoras del virus.
4. Determinar la forma y tamaño del virus mediante microscopía electrónica.

1. MARCO REFERENCIAL

Como el problema estudiado, está asociado con un virus en tomate de árbol, a continuación se hace una revisión acerca de algunos problemas registrados en este cultivo asociados a estos fitopatógenos y algunos aspectos de importancia en virología vegetal.

1.1 ENFERMEDADES CAUSADAS POR VIRUS EN TOMATE DE ARBOL (*Solanum betaceum* [Sendt.]

1.1.1 Virus del mosaico del Valle de Sibundoy. Este mosaico del tomate de árbol es ocasionado por un virus transmitido mecánicamente y por áfidos *M. persicae* y *Macrosiphum sp*, de manera no persistente, observándose mayor capacidad de transmisión con la primera especie, este virus tiene su punto de dilución de 1: 100.000, el punto térmico de inactivación fue de 59 °C y la longevidad in vitro de 72 horas a 15 °C².

² ORTEGA, Iveth. Caracterización del virus del mosaico del tomate de árbol presente en el Valle de Sibundoy, departamento de Nariño. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo) Facultad de Ciencias Agrícolas. Pasto : Universidad de Nariño, 1991. p. 54 – 56.

“Los síntomas principales son: malformación de hojas, mosaicos, rugosidad, moteado del fruto y finalmente secamiento descendente con escasa formación de nuevos brotes”³.

1.1.2 Virosis del tomate de árbol. El agente causante es un virus alargado y flexuoso. La virosis es considerada actualmente como la enfermedad viral de mayor importancia económica en el departamento de Antioquia, ya que desde 1991 ha venido afectando severamente los cultivos; esta virosis no se transmite por semilla pero sí mecánicamente de un árbol afectado a otro sano con herramientas contaminadas⁴.

La enfermedad se manifiesta en los diferentes órganos del árbol; los síntomas son muy variables y no siempre se hallan reunidos en un mismo árbol; los síntomas se acentúan en los brotes tiernos y en las hojas nuevas presentándose floraciones prematuras y formación de rosetas; las hojas se alargan, presentan mosaicos, moteados engrosamiento de venas y presencia de ampollas; en los frutos verdes se observan manchas geométricas moradas que cambian a tonalidades rojizas cuando los frutos maduran, algunos frutos se deforman y tienen una pulpa seca y ácida⁵.

³ Ibid, p. 54 – 56.

⁴ BERNAL y TAMAYO, Op. cit, p. 31 – 32.

1.1.3 Mosaico común del tomate de árbol. “Causado por un virus esférico, detectado por primera vez en 1986 en Marinilla Antioquia. Es considerado una enfermedad de poca importancia económica debido a su baja incidencia; no se transmite por semilla pero sí mecánicamente con herramientas contaminadas”⁶.

“La enfermedad no afecta a los frutos y solo se manifiesta en las hojas, causando síntomas leves de mosaico en cualquier estado de desarrollo del árbol; las hojas afectadas no sufren deformaciones, vejigas ni arrugamientos”⁷.

1.1.4 Enfermedad de etiología viral en cultivos de tomate de árbol en el Valle del Cauca. Los síntomas de la enfermedad son de carácter sistémico y más acentuados en hojas y brotes jóvenes. Inicialmente se presenta un mosaico suave que alterna con áreas cloróticas y verdes en la lámina foliar, en las hojas hay presencia de vejigas, deformaciones y encocamientos; si la enfermedad avanza las hojas se presentan pequeñas, arrugadas y con tendencia a caerse, las ramas comienzan a secarse de manera descendente similar a los síntomas de antracnosis.

Se ha logrado comprobar que se transmite mecánicamente y por áfidos, mediante microscopía electrónica en el Centro Internacional de Agricultura Tropical, se detectaron partículas tanto isométricas como

⁵ Ibid, p. 31 -32

⁶ Ibid, p. 35.

flexuosas; las características son similares a las inducidas por un **Potyvirus** presente en Antioquia⁸.

1.2 DEFINICION DE VIRUS

Un virus es un grupo de una o más moléculas de ácido nucleico, normalmente protegido por una o varias cubiertas de proteína o lipoproteína, que es capaz de organizar su propia multiplicación, cuando se encuentra en el interior de un hospedante susceptible vivo. En el interior de esas células la producción de nuevas partículas de virus depende de la maquinaria de síntesis de proteína del hospedante⁹.

“Los virus son partículas submicroscópicas capaces de generar enfermedades en su hospedante, presentan formas isométricas ó flexuosas y su material genético puede ser ADN o ARN de cadena sencilla o doble”¹⁰.

⁷ Ibid, p. 35.

⁸ CHAVEZ, Bibiana y VARON, Francia. Enfermedad de etiología viral en cultivos de tomate de árbol. Epidemiología Agrícola, 2001, p. 39.

⁹ MATTHEWS, R. Plant virology. New York : Academic Press, 1991. 835 p.

¹⁰ LOEBENSTEIN, Gad. What is a virus. In: Loebenstein, Gad; LAWSON, Roger y BRUNT, Alan. Virus and virus-like diseases of bulb and flower crops. New York : John Wiley and sons, 1995. p. 3.

1.3 IMPORTANCIA ECONOMICA DE LOS VIRUS FITOPATOGENOS

Todos los cultivos económicamente importantes pueden infectarse por virus, en la mayoría de los casos se presenta una reducción en la producción o deterioro de la calidad, pero las pérdidas pueden variar bruscamente de acuerdo al manejo y condiciones ecológicas que se den al cultivo, resultando pérdidas parciales o totales¹¹.

“En el cultivo de tomate por ejemplo, el virus del mosaico puede causar pérdidas entre un 15 a 25% en la producción”¹².

“Otros como el virus del mosaico de Sibundoy puede llegar a causar la pérdida total de la producción”¹³.

Otra consideración con respecto a la importancia económica de los virus vegetales se ve, no sólo en el valor de las pérdidas del cultivo, sino también en el alto costo de las medidas de prevención requeridas para evitar la infección; tales medidas incluyen aspersiones químicas para controlar los insectos que transmiten el virus, la obtención de semilla libre de virus, por ejemplo con

¹¹ WALKEY, D. Applied plant virology. London : Chapman and Hall, 1991. p. 9.

¹² BROADBENT, L. Epidemiology and control of tomato mosaic virus. London : Ann rev Phyto, 1976. p. 14.

termoterapia, resulta muy costoso obtener variedades resistentes y los esquemas de la certificación para proporcionar estacas sanas de siembra para cultivos propagados vegetativamente¹⁴.

1.4 METODOS DE INVESTIGACION EN VIROLOGIA

1.4.1 Transmisión mecánica. Consiste en obtener tejidos sintomáticos de plantas y hacer una maceración en un mortero previamente refrigerado y en presencia de una sustancia tampón, como fosfato de potasio, Boratos, pvp o pvpv en proporción 1:1 (V/V), se prueban diferentes valores de pH de la solución tampón desde 7, subiendo en décimas hasta 8; de igual forma concentraciones molares desde 0,05 M hasta 0,1M para buscar el punto óptimo de eficiencia de transmisión¹⁵.

“Una vez obtenido el jugo se inocula en las hojas de las plantas que se quiere transmitir el virus, las cuales deben ser asperjadas con un abrasivo para causar

¹³ ORTEGA, Op. cit., p.54.

¹⁴ WALXVCKEY, D. Applied plant virology. London: Chapman and Hall, 1991. p. 9.

¹⁵ LAWSON, Roger. Transmission of plant viruses. In: Loebenstein, Gad; LAWSON, Roger y BRUNT, Alan. Virus and virus-like diseases of bulb and flower crops. New York : John Wiley and sons, 1995. p. 117.

laceraciones y permitir que el virus infecte. Una vez inoculadas las hojas, se lavan y se marcan con cinta para posteriores evaluaciones”¹⁶.

1.4.2 Transmisión por insectos. “En lotes donde se presenta el problema se recolectan diferentes especies de insectos chupadores asociados con el cultivo en estudio, los insectos se colectan de plantas sintomáticas, se capturan con un aspirador de plástico y se los transporta a un sitio seguro”¹⁷.

Una vez obtenidas las colonias libres de virus se toman diferentes grupos de individuos y se pueden dejar en períodos de ayuno si se trata de virus no persistente o semipersistentes, para aumentar la eficiencia de transmisión, previos a la adquisición; se pueden probar tiempos de adquisición sobre las plantas enfermas; luego con un pincel de punta fina se llevan los insectos a las plantas sanas que se quiere probar, se pueden emplear diferentes tiempos de inoculación dependiendo del tipo de relación del insecto y el virus. En seguida los insectos se eliminan con un insecticida para posteriormente hacer las evaluaciones correspondientes¹⁸.

¹⁶ Ibid, p. 117.

¹⁷ MATTHEWS, R. Plant virology, New York: Academic Press, 1991. p. 525.

¹⁸ Ibid, p. 465.

1.4.3 Transmisión por semilla. Se cosechan frutos de plantas sintomáticas, se extraen las semillas con los cuidados del caso y se siembran manualmente en bolsas plásticas, con suelo esterilizado, para mantenerse las plantas en invernadero durante seis meses. Se realizan evaluaciones semanales para mirar si hay aparición de síntomas, además se tienen en cuenta las medidas necesarias para mantener el lugar libre de insectos vectores de virus, también las plantas se deben fertilizar para evitar confundir los síntomas con alguna deficiencia nutricional¹⁹.

1.5 PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS DE LOS VIRUS

1.5.1 Punto final de dilución del virus. Es la máxima dilución soportada por un virus, para continuar siendo infectivo. Es el alcance de un virus a una mínima concentración a la cual todavía actúa sobre el hospedante. El agua es un diluyente recomendado. La dilución se realiza comúnmente en escala logarítmica 1/1, 1/10, 1/100.... hasta 1/10.000.000 y cada dilución deberá ser frotada sobre igual número de plantas. El punto final de dilución se da entre la más alta dilución en la que se detuvo la infección y la inmediatamente anterior²⁰.

¹⁹ Ibid, p. 339.

²⁰ DIJKSTRA, Jeanne y DE JAGER, Cess. Practical plant virology. New York : Pro Edit, 1998. p. 100.

1.5.2 Longevidad in vitro del virus. Es el tiempo durante el cual el virus conserva su poder infectivo fuera de las células a temperatura ambiente ó a 4 grados centígrados. Las pruebas para establecer la longevidad in vitro son hechas por lo general con savia recién extraída y almacenada en envases taponados²¹.

1.5.3. Punto termal de inactivación. “Es la temperatura requerida para la completa inactivación del virus que se halla presente en jugo crudo no tratado y es expuesto durante diez minutos”²².

Aún en concentraciones altas del virus, el pH y la presencia de otros materiales pueden afectar el punto termal de inactivación, las cualidades físicas y químicas del virus son las que deciden fundamentalmente su resistencia a temperaturas altas, se pueden emplear temperaturas de 5 ó 10 grados centígrados, pero la segunda vez se puede emplear intervalos de 2° C²³.

²¹ Ibid, p. 100.

²² Ibid, p. 100.

2. DISEÑO METODOLOGICO

2.1 LOCALIZACION

El trabajo se desarrolló en condiciones de invernadero de la Universidad de Nariño, Torobajo, (Pasto, Nariño) a 2.600 m.s.n.m, y una temperatura promedio de 13° C. También se trabajó en los laboratorios de Entomología de la Universidad de Nariño y en el Centro Internacional de Agricultura Tropical, Palmira.

2.2 FUENTE DE INOCULO

En el municipio de Ipiales, localidad de San Juan, se seleccionó plantas de tomate de árbol, las cuales presentaban síntomas como manchas aceitosas, clorosis, mosaicos, distorsiones en color, forma y tamaño de las hojas y frutos.

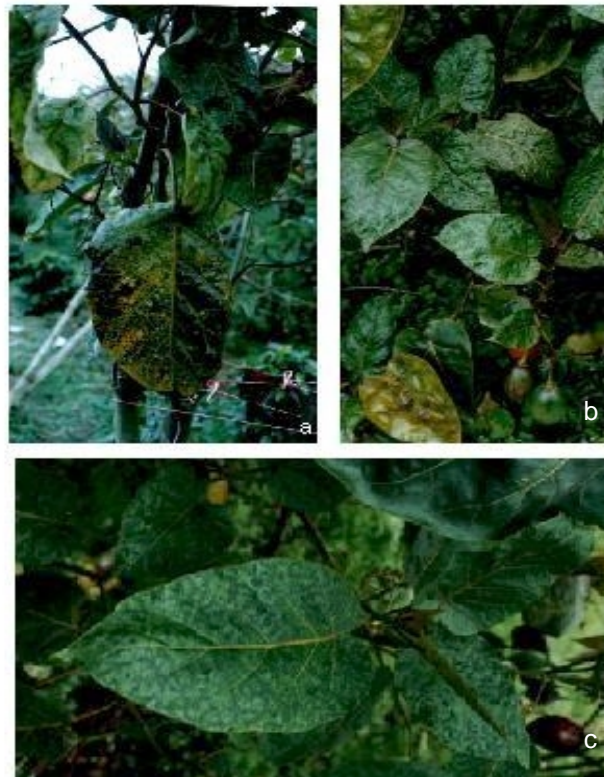
Además, plantas con síntomas avanzados, donde se observó necrosamiento de hojas y ramas (Figura 1).

A partir de las plantas seleccionadas en el campo, se tomaron tejidos jóvenes y se transportaron al invernadero de la Universidad de Nariño, recubriendo las hojas

²³ Ibid, p. 100.

con papel toalla humedecido y se colocaron dentro de bolsas de papel aluminio para evitar su deterioro y realizar posteriormente pruebas de transmisión.

Figura 1. Síntomas registrados en plantas de tomate de árbol, bajo condiciones de campo, cultivo localizado en San Juan. a) Presencia de manchas aceitosas; b) Distorsión en tamaño y forma de hojas; c) Síntomas de mosaicos cloróticos.



2.3 MULTIPLICACION DE POTENCIALES PLANTAS INDICADORAS

Se utilizaron las siguientes especies de plantas registradas como potenciales indicadoras de virus:

Cenizo rojo (*Chenopodium amaranticolor* Coste y Reyn), Quinoa (*Chenopodium quinua* L.), Globitos (*Gomphrena globosa* L., Globe), Tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), Tabaquillo (*Nicotiana bentamiana* Domin), Fríjol (*Phaseolus vulgaris* L.), Lulo (*Solanum quitoense* L.), Papa (*Solanum andigenum* L.), Uvilla (*Physalis peruviana* L.), Pimentón (*Capsicum annuum* L.), Ají rocoto (*Capsicum pubescens* L.), Tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum* Mill).

Estas plantas se multiplicaron por semilla, en vasos de ciento cincuenta gramos de suelo franco, se mantuvieron en invernadero antes y después de la inoculación, además se fertilizaron mensualmente con 0.5 gramos de 15-15-15 y se les suministró riego diariamente.

2.4 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

Por tratarse de un experimento donde lo que se busca es aclarar la etiología de una enfermedad, simplemente los resultados se presentan como porcentajes y en el caso de las propiedades físico-químicas se hicieron regresiones lineales.

2.5 TRANSMISION MECANICA

Para estas pruebas se maceraron tejidos jóvenes sintomáticos de hojas de tomate en morteros esterilizados y previamente refrigerados y en presencia de una solución tampón (fosfato de potasio) en proporción 1:1 (V/V); se utilizaron valores de pH de la solución tampón de 7,1; 7,2; de igual manera se probaron concentraciones molares de 0,05; 0,07 y 0,1 M., tratando de incrementar la eficiencia de transmisión. Se utilizaron 36 plantas de tomate de árbol de dos meses de edad en cada tratamiento.

Posteriormente se inocularon un par de hojas jóvenes bien desarrolladas de cada una de las plantas indicadoras de un mes de edad, las cuales fueron asperjadas previamente con carborundum 600 mallas para causar laceraciones, se probaron los mismos valores de pH de la solución tampón y las mismas concentraciones molares. Se utilizaron 36 plantas de cada especie indicadora e igual número como testigos por la escasa disponibilidad de material.

Los testigos se inocularon únicamente con la solución tampón y una vez determinado el mejor pH y la mejor concentración se inocularon 216 plantas de tomate de árbol y 36 plantas de tabaco adicionales que resultaron positivas en las pruebas preliminares; una vez pasada la inoculación las plantas se lavaron y se marcaron con cinta, las plantas testigos se ubicaron distanciadas de las plantas tratadas para evitar contacto entre ellas.

Este procedimiento se toma con base en la metodología descrita por Lawson²⁴.

2.6 TRANSMISION POR INSECTOS

En los lotes donde se presenta el problema, se recolectaron áfidos presentes en plantas con los síntomas característicos de la enfermedad; los insectos se capturaron con un aspirador de plástico y fueron transportados en cajas petri con papel toalla humedecido al insectario de la Universidad de Nariño donde se criaron colonias a partir de insectos recién paridos con el objetivo de obtener áfidos libres de virus.

Los insectos fueron mantenidos en plantas de cítricos, café y tomate de árbol encerrados en jaulas de madera y malla. Siguiendo la metodología descrita por Matthews.

Para las pruebas de transmisión por insectos se tomaron grupos de 1, 3, 5 y 10 individuos, los cuales se dejaron en cajas petri con papel toalla humedecido con el fin de que cumplan períodos de ayuno de 10 minutos previo a la adquisición del virus. Los insectos fueron trasladados con un pincel de punta fina hacia las plantas enfermas y una vez insertaban su estilete en el tejido se probaron tiempos de adquisición de un minuto, tres minutos y cinco minutos.

²⁴ LAWSON, Op. cit. 117.

Posteriormente, con el pincel se transportaron a las plantas sanas de tomate durante un tiempo de inoculación de un minuto, tres minutos y cinco minutos. Se utilizaron 36 plantas de tomate por tratamiento; así se determinó el mejor tiempo de adquisición y de inoculación.

De igual forma se hicieron los tratamientos en las plantas indicadoras, se utilizó 36 plantas de tabaco y 20 plantas de las otras indicadoras por el poco material disponible; los testigos fueron plantas sanas expuestas a insectos que no hayan tenido contacto con plantas enfermas, una vez pasada la inoculación, los insectos fueron eliminados con sistemín (Dimetoato) en dosis de un centímetro cúbico por litro de agua, las plantas se evaluaron semanalmente hasta que aparecieron los síntomas.

2.7 TRANSMISION POR SEMILLA

Se cosecharon 25 frutos procedentes de plantas sintomáticas de las cuales se obtuvieron 650 semillas y se hizo un germinador en arena esterilizada, se transplantaron 100 plantas a bolsas de 1 Kg. de suelo esterilizado y se mantuvieron en el invernadero durante seis meses, libres de la presencia de insectos. Se realizaron evaluaciones semanales durante este período de tiempo para observar si se presentaban síntomas, las plantas se fertilizaron

mensualmente con 0.5 gramos de 15-15-15 para evitar síntomas de deficiencias nutricionales, siguiendo la metodología descrita por Matthews²⁵.

2.8 DETERMINACION DE LAS CARACTERISTICAS FISICOQUÍMICAS DEL VIRUS

Una vez conseguida la transmisión mecánica se procedió a determinar el punto final de dilución, la longevidad in vitro y el punto termal de inactivación, siguiendo la metodología descrita por Dijkstra y De Jager²⁶.

2.8.1 Punto final de dilución. Se tomaron 10 ml de savia pura infectada (10^0) y se inocularon mecánicamente las plantas testigo, de la savia pura se tomó un ml. y se diluyó en 9 ml. de agua y se formó la dilución 10^{-1} y se hizo una nueva inoculación mecánica, de esta dilución se tomó un ml. y se diluyó en 9 ml. de agua y se obtuvo la dilución 10^{-2} y se hizo otra dilución; así sucesivamente hasta realizar la dilución 10^{-6} , se inocularon 54 plantas por tratamiento (dilución), se dejó el mismo número de plantas como testigo 10^0 , para un total de 378 plantas.

2.8.2 Longevidad in vitro. Se colocaron 2 ml. de savia infectada de plantas de tomate en tubos de ensayo, los cuales se sellaron y se guardaron a temperatura ambiente y a 4^0 C, durante diferentes tiempos de conservación del inóculo de 1, 2,

²⁵ MATTHEWS, Op. cit. 339.

²⁶ DIJKSTRA y DE JAGER, Op. cit. p. 100 – 102.

4, 8, 16, 32 días y un testigo con savia inmediatamente extraída. Una vez transcurrido cada uno de los tiempos, se inocularon mecánicamente 12 plantas de tomate, se hicieron tres repeticiones para cada tratamiento. Una vez determinado el tiempo en que no se registran síntomas, se trabajó con escalas de un día.

2.8.3 Punto termal de inactivación. Se colocaron 2 ml. de savia infectada, en cuatro tubos de ensayo, se calentaron en baño María en estufa con temperatura regulada hasta alcanzar temperaturas de 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 °C durante diez minutos. Pasado el tiempo de tratamiento se llevaron los tubos de ensayo a un baño de hielo, además se dejó un testigo a temperatura ambiente; posteriormente se hizo las inoculaciones de 27 plantas de tomate para cada temperatura.

Una vez hallado el punto termal de inactivación en una de las siete escalas anteriormente anotadas se probó en un rango de diez grados centígrados por encima y por debajo de esa temperatura encontrada, se utilizó escalas de 1 °C para encontrar la temperatura exacta donde el virus es inactivado. Los tratamientos se hicieron siguiendo la metodología descrita por Dijkstra y De Jager²⁷.

²⁷ DIJKSTRA y DE JAGER. Op. cit. p. 100.

2.9 IDENTIFICACION DEL VECTOR

Una vez obtenida la transmisión por áfidos se realizó su identificación en el laboratorio de Entomología de la Universidad de Nariño, siguiendo las claves descritas por Bustillo y Sánchez²⁸.

2.10 PRUEBA DE PATOGENICIDAD

Luego de la transmisión del virus a las plantas potenciales indicadoras y para completar las pruebas de patogenicidad, se tomaron plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) con síntomas y se repitió el proceso de transmisión mecánica nuevamente hacia plantas de tomate. Se inocularon 30 plantas de tomate para comprobar que se trataba del mismo patógeno.

2.11 MICROSCOPIA ELECTRONICA

Muestras de tejidos foliares procedentes de plantas sintomáticas de tomate se llevaron al Centro Internacional de Agricultura Tropical, Palmira, Valle, para comprobar la presencia de partículas virales, mediante observación al microscopio electrónico de transmisión, con la técnica de tinción negativa.

²⁸ BUSTILLO, Alex y SANCHEZ, Guillermo. Los áfidos en Colombia, plagas que afectan los cultivos agrícolas de importancia económica. Bogotá : ICA-Colciencias, 1981, p. 91.

3. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

3.1 TRANSMISION MECANICA Y RANGO DE HOSPEDANTES

Los síntomas de la enfermedad se consideran de carácter sistémico y son más acentuados en las hojas jóvenes y brotes tiernos en tomate de árbol. Al principio se presentó un mosaico suave que se alterna con áreas cloróticas, las hojas se deforman y aparecen las manchas aceitosas (Figura 2).

El virus se transmitió de tomate a tomate con una eficiencia superior al 80% (Cuadro 1). El período de incubación del virus fue de 15 a 22 días, se manifestaron síntomas como clorosis intervenales, mosaicos, deformaciones de hojas y manchas aceitosas, iguales a las registradas en campo.

Además, se determinó que la solución tampón (fosfato de potasio) tuvo una mayor eficiencia con pH de 7,0 (Cuadro1) y con una concentración de 0,1 M (Cuadro 2).

De otro lado, se observó que los síntomas se enmascaran después de 20 a 30 días de su aparición, principalmente por altas temperaturas. De igual manera se enmascaran después de 8 a 10 días de la aplicación del fertilizante. Sin embargo,

los síntomas reaparecen consistentemente una vez las condiciones vuelven a ser adecuadas para la reproducción y activación del virus.

Figura 2. Síntomas registrados en plantas de tomate de árbol, bajo condiciones de invernadero, a partir de transmisión mecánica. a) Clorosis intervenal e inicio de manchas aceitosas; b) Planta con clorosis intensa y distorsión de la lámina foliar, 15 días después de la inoculación; c) Punteado clorótico después de 4 meses de inoculación.



El virus registrado en tomate es de fácil transmisión mecánica y, en pruebas de transmisión de tomate a tabaco, la eficiencia fue superior al 40% (Cuadro 2 y 3). El período de incubación fue de 10 a 15 días, en las demás especies probadas como el ají, pimentón, tomate de mesa, papa, uvilla, quinua, cenizo rojo, tabaquillo y frijol no se presentaron síntomas.

El tabaco presentó síntomas muy característicos como clorosis y amarillamientos generalizados en todas las hojas (Figura 3), es decir, esta planta puede utilizarse como indicadora del virus o como planta de diagnóstico, además puede servir en multiplicación y conservación del virus y también representa un peligro potencial ya que en el campo podría presentarse transmisión por frotación entre hojas en labores culturales como cosecha, podas, siembra, etc, o por rozamientos entre hojas en épocas de vientos.

Además, al encontrar el tabaco como un hospedante alternativo, permitió realizar las pruebas de patogenicidad y reafirmar que el virus se transmite mecánicamente de tomate a tabaco y viceversa.

Es importante destacar que en los cultivos de tomate de árbol en la localidad de San Juan y otras regiones, donde se presenta el problema deben realizarse programas de erradicación de plantas infectadas por el virus ya que estas sirven como fuente de inóculo de la enfermedad y adecuar prácticas de manejo en plantaciones nuevas tendientes a evitar la entrada del virus.

De otro lado, los resultados obtenidos en esta investigación son diferentes a trabajos realizados en el Valle del Cauca, donde en una enfermedad de etiología viral en tomate de árbol, mecánicamente recuperaron síntomas como mosaicos, vejigas, deformación y enanismo, además la eficiencia de transmisión fue únicamente del 17%²⁹.

²⁹ CHAVEZ y VARON, Op. cit., p. 40.

Cuadro 1. Eficiencia de transmisión mecánica del virus en diferentes especies de plantas, con Buffer fosfato a 0,1 M y diferentes pH.

ESPECIE	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS (+)/(-)			EFICIENCIA DE TRANSMISION (%)		
		PH			pH		
		7.0	7.1	7.2	7.0	7.1	7.2
Tomate de árbol	36	30/6	25/11	22/14	83.33	69.44	61.11
Tabaco	36	16/20	12/24	10/26	44.44	33.33	27.77
Cenizo rojo	36	0/36	0/36	0/36	0.0	0.0	0.0
Quinua	36	0/36	0/36	0/36	0.0	0.0	0.0
Globitos	36	0/36	0/36	0/36	0.0	0.0	0.0
Tabaquillo	36	0/36	0/36	0/36	0.0	0.0	0.0
Frijol	36	0/36	0/36	0/36	0.0	0.0	0.0
Lulo	36	0/36	0/36	0/36	0.0	0.0	0.0
Papa	36	0/36	0/36	0/36	0.0	0.0	0.0
Uvilla	36	0/36	0/36	0/36	0.0	0.0	0.0
Ají	36	0/36	0/36	0/36	0.0	0.0	0.0
Pimentón	36	0/36	0/36	0/36	0.0	0.0	0.0
Tomate de mesa	36	0/36	0/36	0/36	0.0	0.0	0.0

Cuadro 2. Eficiencia de transmisión mecánica del virus en diferentes especies de plantas con Buffer fosfato a pH 7,0 y diferentes concentraciones.

ESPECIE	PLANTAS INOCULADAS	PLANTA (+)/ (-)			EFECIENCIA DE TRANSMISION %		
		CONCENTRACION			CONCENTRACION		
		0.05	0.07	0.1	0.05	0.07	0.1
Tomate de árbol	36	6/30	17/19	30/6	16.66	47.22	83.33
Tabaco	36	3/33	7/29	16/20	8.33	19.44	44.44
Cenizo rojo	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Quinua	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Globitos	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Tabaquillo	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Fríjol	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Lulo	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Papa	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Uvilla	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Ají	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Pimentón	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Tomate de mesa	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0

Cuadro 3. Eficiencia de transmisión mecánica en tomate de árbol y tabaco con Buffer fosfato 0,1 M y pH 7,0.

ESPECIE	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS (+)/(-)	EFICIENCIA DE TRANSMISIÓN (%)
Tomate de árbol	216	183/33	84.72
Tabaco	36	15/21	41.66

Figura 3. Síntomas registrados en invernadero en planta de tabaco a partir de transmisión mecánica, presencia de clorosis y amarillamientos.



De igual manera, al comparar el virus del presente estudio con el virus de Sibundoy, se encuentran diferencias marcadas ya que este presenta síntomas como la malformación de hojas, mosaico, rugosidad, moteado de los frutos, caída de flores, nula formación de frutos y finalmente secamiento descendente con escasa formación de nuevos brotes; también el virus de Sibundoy tiene varios hospedantes alternos como el tomate silvestre de Sibundoy (*Solanum sibundoyensis*), yerba mora (*Solanum nigrum*), uvilla (*Physalis peruviana*), cenizo rojo (*Chenopodium amaranticolor*), entre otros³⁰.

Si se compara este virus con otro presente en el departamento de Antioquia donde una virosis causa grandes pérdidas económicas en tomate de árbol, no se transmite por semilla, pero sí mecánicamente por herramientas contaminadas, los síntomas son muy variables y se acentúan en los brotes tiernos, presentándose floraciones prematuras, formación de rosetas, las hojas se alargan, hay engrosamiento de venas, presencia de ampollas y algunos frutos al madurar se deforman y presentan pulpa seca y ácida³¹.

Las características de los síntomas descritos anteriormente son diferentes a los síntomas encontrados en la enfermedad estudiada en esta investigación. Aunque

³⁰ ORTEGA, Op. cit., p.46.

³¹ BERNAL y TAMAYO, Op. cit., p. 31.

depende del criterio del investigador y se requiere de estudios más profundos para poder diferenciarlos o compararlos.

3.2 TRANSMISION POR AFIDOS

Hubo transmisión del virus por áfidos en forma no persistente, de tomate a tomate, expuestos a un período de ayuno de 10 minutos, con un período de adquisición e inoculación de tres minutos, que fueron determinados como los mejores tiempos para lograr una mejor transmisión (Cuadro 4 y 5); se logró una eficiencia del 5,5% cuando se utilizó un áfido, del 16.66% cuando se utilizaron tres áfidos, del 38,88% cuando se utilizaron 5 áfidos y del 44,44% cuando se utilizaron 10 áfidos (Cuadro 6).

También, se hicieron los mismos tratamientos en tabaco y demás plantas indicadoras y los resultados nunca fueron positivos, posiblemente por la especificidad del virus y su relación con el vector.

Los síntomas en tomate se manifestaron en el primer y segundo par de hojas verdaderas en un período de incubación de 15 a 27 días, se presentaron clorosis de la lámina foliar que progresó a manchas anulares cloróticas en la haz de la hoja y posteriormente apareció la mancha grasienta que es el síntoma característico de este disturbio (Figura 4).

Cuadro 4. Transmisión del virus por el áfido *Myzus persicae* en grupos de 10 insectos, en diferentes especies de plantas con un período de inoculación de 3 minutos, un período de ayuno de 10 minutos y diferentes períodos de adquisición.

ESPECIE	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS (+)/(-)			EFICIENCIA DE TRANSMISION %		
		PERIODO DE ADQUISICION EN MINUTOS			PERIODO DE ADQUISICION EN MINUTOS		
		1	3	5	1	3	5
Tomate de árbol	36	8/24	30/6	30/6	22.22	83.33	83.33
Tabaco	36	0/36	0/36	0/36	0.0	0.0	0.0
cenizo rojo	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Quinoa	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Globitos	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Tabaquillo	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Fríjol	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Lulo	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Papa	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Uvilla	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Aji	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Pimentón	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Tomate de mesa	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0

Cuadro 5. Transmisión del virus por el áfido *Myzus persicae* en grupos de 10, en diferentes especies de plantas con un período de adquisición de 3 minutos, un período de ayuno de 10 minutos y diferentes períodos de inoculación.

ESPECIE	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS (+)/(-)			EFICIENCIA DE TRANSMISION (%)		
		PERIODO DE INOCULACION EN MINUTOS			PERIODO DE INOCULACION EN MINUTOS		
		1	3	5	1	3	5
Tomate de árbol	36	6/30	29/7	29/7	16.66	80.55	80.55
Tabaco	36	0/36	0/36	0/36	0.0	0.0	0.0
Cenizo rojo	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Quinoa	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Globitos	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Tabaquillo	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Frijol	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Lulo	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Papa	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Uvilla	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Ají	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Pimentón	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0
Tomate de mesa	20	0/20	0/20	0/20	0.0	0.0	0.0

Cuadro 6. Eficiencia de transmisión del virus en tomate de árbol por el áfido *Myzus persicae* en grupos de 1, 3, 5 y 10 por planta con períodos de adquisición e inoculación de 3 minutos y un período de ayuno de 10 minutos.

GRUPOS DE AFIDOS	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS (+)/(-)	EFICIENCIA DE TRANSMISIÓN (%)
1	72	4/68	5.55
3	72	12/60	16.66
5	72	28/44	38.88
10	72	32/40	44.44

Figura 4. Síntomas registrados en plantas de tomate de árbol bajo condiciones de invernadero a través de transmisión por insectos. a) Necrosamiento de hojas y presencia de manchas aceitosas; b) distorsión de hojas y clorosis intervenal; c) planta con clorosis intensa de la lámina foliar un mes después de la inoculación.



De igual forma que la transmisión mecánica, la transmisión por áfidos, cuya eficiencia fue superior al 40% cuando se utilizaron 10 insectos, también representa un grave peligro para las zonas productoras de tomate de árbol, ya que este insecto se halla asociado con las plantas enfermas en las localidades donde se encuentra este disturbio.

También por la íntima relación del insecto hospedante se debe tener en cuenta a esta plaga para estudios de epidemiología de la enfermedad, ya que la presencia de altas poblaciones de los mismos en cultivos visitados, hace sospechar que la principal forma de diseminación de la enfermedad en el campo puede estar ocurriendo de esta forma.

De otro lado, es muy importante el manejo de estos vectores en viveros, donde se han observado plantas con síntomas severos de la enfermedad lo que hace pensar que son infectadas tempranamente y llevadas al campo, convirtiéndose de esta forma en fuente de diseminación en plantaciones recién establecidas, por tanto los cultivos pueden tener baja producción.

En el virus de Sibundoy en tomate de árbol, la transmisión por insectos se realiza de manera no persistente por los áfidos *Myzus persicae* y *Macrosiphum sp.*, pero

con una eficiencia del 100% y del 70% respectivamente empleando grupos de 10 insectos³².

De la misma manera, en el Valle del Cauca se realizaron pruebas en una enfermedad de etiología viral en tomate de árbol con el áfido *Macrosiphum euphorbiae*, se obtuvo un 5% de transmisión de vejigas y encocamiento de hojas; sin embargo los síntomas, algunas formas de transmisión, vectores y porcentajes de eficiencia de transmisión, son muy diferentes al virus de esta investigación.

3.3 IDENTIFICACION DEL VECTOR

En el laboratorio de Entomología de la Universidad de Nariño, con la ayuda de un microscopio de luz y utilizando un medio Hoyers para fijar y aclarar los áfidos, se logró identificar individuos ápteros y alados; los ápteros son de color amarillo y/o verde, no tienen manchas en el cuerpo, poseen cornículos cilíndricos, antenas largas como el cuerpo. Los individuos alados son de color verde amarillento, tienen manchas oscuras en el dorso del cuerpo, poseen cornículos cilíndricos, antenas casi iguales a la longitud del cuerpo. Con base a estas características se determinó la especie *Myzus persicae* como vector del virus.

³² ORTEGA, Op. cit. p. 56.

3.4 TRANSMISION POR SEMILLA

Durante los seis meses de evaluación no se registró presencia de plantas sintomáticas, lo cual no necesariamente indica que el virus no se pueda transmitir por este método. Sin embargo, es alentador saber que las probabilidades de transmisión por semillas son nulas; ya que este cultivo se propaga totalmente por semilla de tipo sexual. Es decir el manejo debe enfocarse en labores culturales y control del vector.

3.5 PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS

Las propiedades fisicoquímicas del virus se determinaron en plantas de tomate de árbol, el virus presentó un punto final de dilución entre 10^{-4} y 10^{-5} (Cuadro 7), el punto termal de inactivación fue de 59 °C (Cuadro 8) y el virus retuvo su infectividad a los dos días (Cuadro 9). Las plantas que para cada tratamiento resultaron positivas presentaron los mismos síntomas ya descritos en otros procesos de transmisión.

Cuadro 7. Punto final de dilución del virus en tomate de árbol.

DILUCIONES	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS (+)/(-)	EFICIENCIA DE TRANSMISIÓN (%)
10 ⁰	54	42/12	77.77
10 ⁻¹	54	39/15	72.22
10 ⁻²	54	27/27	50.00
10 ⁻³	54	15/39	27.77
10 ⁻⁴	54	2/54	11.11
10 ⁻⁵	54	0/54	0.00
10 ⁻⁶	54	0/54	0.00

Cuadro 8. Punto termal de inactivación del virus en tomate de árbol.

TEMPERATURA °C	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS (+)/(-)	EFICIENCIA DE TRANSMISIÓN %
T° Ambiente (15 °C Testigo)	27	21	77.77
20	27	21	77.77
30	27	18	66.66
40	27	12	44.44
50	27	12	44.44
51	27	12	44.44
52	27	12	44.44
53	27	9	33.33
54	27	9	33.33
55	27	6	22.22
56	27	6	22.22
57	27	3	11.11
58	27	1	3.70
59	27	1	3.70
60	27	0	0.00
61	27	0	0.00
62	27	0	0.00
63	27	0	0.00
64	27	0	0.00
65	27	0	0.00

Cuadro 9. Longevidad in vitro del virus de tomate de árbol.

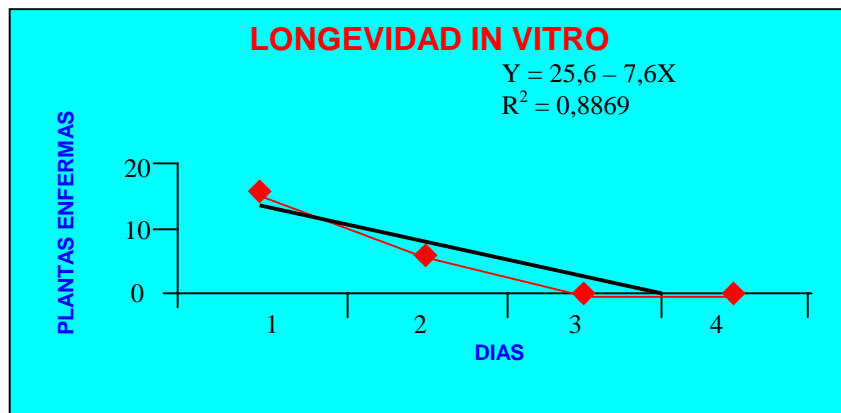
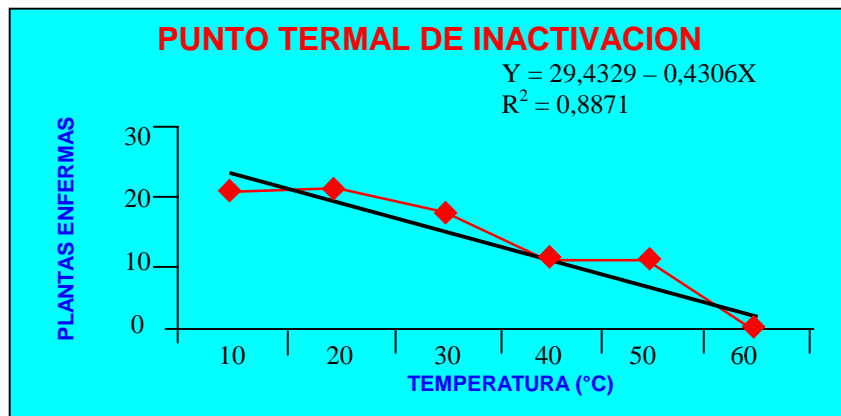
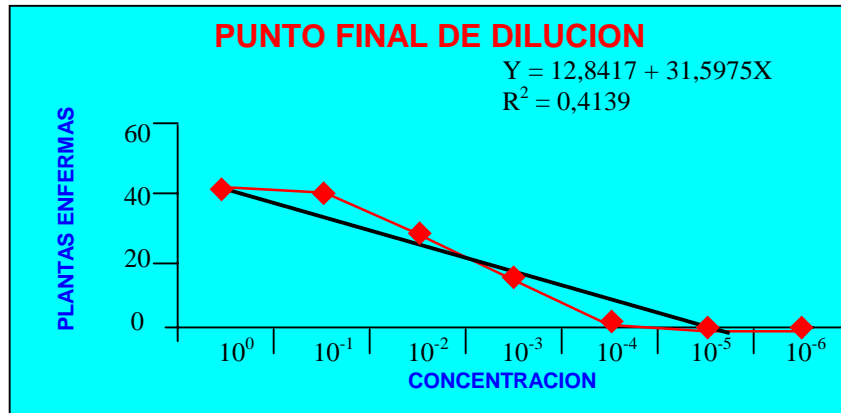
TIEMPO EN DIAS	PLANTAS INOCULADAS	PLANTAS (+)/(-)	EFICIENCIA DE TRANSMISION %
0 (Testigo)	36	30/16	83.33
1	36	16/20	44.44
2	36	6/30	16.66
3	36	0/36	0.00
4	36	0/36	0.00
8	36	0/36	0.00
16	36	0/36	0.00

El punto final de dilución, el punto termal de inactivación y la longevidad in vitro se ajustaron a un modelo de regresión lineal simple con R^2 de 0,4139; 0,8871; 0,8869; respectivamente; esto indica que para una concentración menor de 10^{-5} , temperaturas superiores a 59 °C, y después de 2 días de conservación del inóculo, es muy poco probable que haya infección.

Las propiedades físico-químicas de este virus están dentro de los rangos propuestos para muchos Potyvirus, transmitidos por áfidos y mecánicamente, como por ejemplo el PVY y el PVS³³.

³³ MATTHEWS, Op. cit. p. 84.

Figura 5. Curva del Punto Final de Dilución, del Punto Final de Inactivación y la Longevidad In Vitro.



Es importante resaltar que este virus tiene propiedades fisicoquímicas similares a las del virus del mosaico del Putumayo, ya que el punto final de dilución es de 10^{-4} y 10^{-5} , su punto termal de inactivación de 59 °C, su longevidad in vitro de 72 horas. Sin embargo ya se anotaron diferencias marcadas entre los dos virus en otros aspectos.

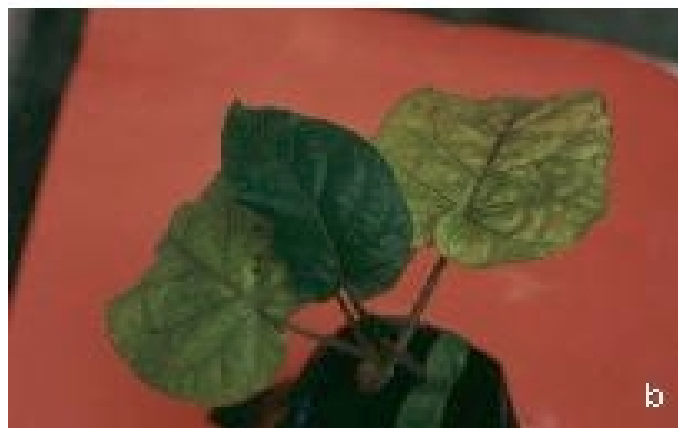
En los demás virus estudiados en tomate de árbol, no se presentan datos de propiedades físico-químicas y por tanto no se pueden comparar con el virus en estudio.

3.6 PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

Los resultados de estas pruebas muestran que 13 de las 30 plantas de tomate (43,33%) inoculadas con savia de tabaco, desarrollaron síntomas similares a los encontrados en campo y en las otras pruebas de transmisión.

Los síntomas aparecieron a los 19 días de la inoculación y se manifestaron como manchas cloróticas de tamaño pequeño, que progresaron para formar manchas anulares y posteriormente aparecieron las manchas grasientas y deformaciones foliares (Figura 6).

Figura 6. Síntomas obtenidos a través de transmisión mecánica de tabaco a tomate. a) Aparición de clorosis intervenal; b) formación de mosaicos intervenales con punteados necróticos.



3.7 MICROSCOPIA ELECTRONICA

En el Centro Internacional de Agricultura Tropical, Palmira, Valle, mediante la técnica de tinción negativa, se observaron al microscopio electrónico de transmisión, partículas largas de 800 nm, las muestras se tomaron de tejidos foliares tiernos sintomáticos de tomate de árbol.

Figura 7. Partícula del virus en tomate de árbol observada mediante microscopio electrónico de transmisión.

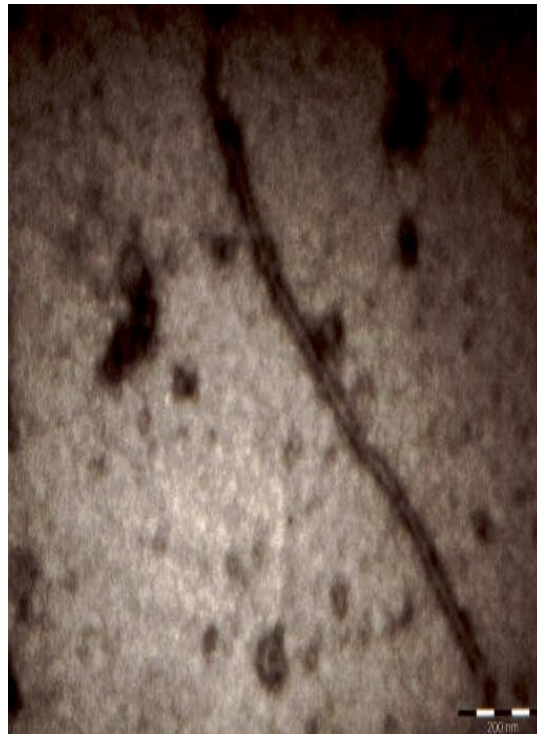


Foto: José Arroyabe (2002).

120.000 X.

4. CONCLUSIONES

El disturbio en tomate de árbol presente en la vereda de San Juan, municipio de Ipiales es de etiología viral, se transmite mecánicamente y por áfidos de la especie *Myzus persicae*, pero no por semilla sexual.

De acuerdo a los resultados el virus tiene un período de incubación entre 15 y 25 días, los síntomas están consistentemente asociados a un virus flexuoso de 800 nm de largo, y pueden enmascararse con cambios de temperatura y fertilización.

La forma de la partícula, su tipo de vector y las propiedades físicoquímicas hacen pensar que se trata de un virus del género Potyvirus.

El virus presenta un punto final de dilución entre 10^{-4} y 10^{-5} , un punto termal de inactivación de 59 °C y retiene su infectividad a los dos días; además el tabaco es un hospedante alternativo del patógeno.

5. RECOMENDACIONES

Realizar estudios tendientes a determinar el efecto de la enfermedad sobre la producción.

Determinar la incidencia de la enfermedad en las zonas productoras en el departamento de Nariño.

Efectuar pruebas serológicas con antisueros policlonales para Potivirus, para comprobar si se trata de un virus de este género.

Determinar la reacción de diferentes materiales de tomate de árbol al virus.

Es importante establecer estrategias de manejo encaminadas a evitar la dispersión del virus en forma mecánica durante labores de cosecha y poda e igualmente de transmisión por áfidos, los cuales resultaron muy eficientes en su diseminación.

BIBLIOGRAFIA

BERNAL, Jorge y TAMAYO, Pablo. Enfermedades del cultivo de tomate de árbol en Antioquia. Investigaciones Agrícolas. 1997, p. 4-34.

BROADBENT, L. Epidemiology and control of tomato mosaic virus. London : Ann rev Phyto, 1976. 338 p.

BUSTILLO, Alex y SANCHEZ, Guillermo. Los áfidos en Colombia, plagas que afectan los cultivos agrícolas de importancia económica. Bogotá : ICA-Colciencias, 1981. 96 p.

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. Principales enfermedades virales de fríjol en América Latina y su control. Cali : CIAT, 1988. 36 p.

CHAVEZ, Bibiana y VARON, Francia. Enfermedad de etiología viral en cultivos de tomate de árbol. Epidemiología Agrícola, 2001. p. 39-43.

DIJKSTRA, Jeanne y DE JAGER, Cess. Practical plant virology. New York : Pro Edit, 1998. 459 p.

LAWSON, Roger. Transmission of plant viruses. In: Loebenstein, Gad; LAWSON, Roger y BRUNT, Alan. Virus and virus-like diseases of bulb and flower crops. New York : John Wiley and sons, 1995. 524 p.

LOEBENSTEIN, Gad. What is a virus. In: Loebenstein, Gad; LAWSON, Roger y BRUNT, Alan. Virus and virus-like diseases of bulb and flower crops. New York : John Wiley and sons, 1995. 524 p.

MATTHEWS, R. Plant virology, New York : Academic Press, 1991. 835 p.

ORTEGA, Iveth. Caracterización del virus del mosaico del tomate de árbol presente en el Valle de Sibundoy, departamento de Nariño. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo) Facultad de Ciencias Agrícolas. Pasto : Universidad de Nariño, 1991. 61 p.

WALKEY, D. Applied plant virology. London : Chapman and Hall, 1991. 336 p.