



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**  
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS  
AGRÍCOLAS

**CAMPUS MONTECILLO**

POSTGRADO DE FITOSANIDAD  
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

**“PRODUCCIÓN DE SEMILLA DE TOMATE DE CÁSCARA (*Physalis  
ixocarpa* Brot.) LIBRE DE VIRUS MEDIANTE EL MANEJO DE  
INSECTOS VECTORES”**

**JOSÉ MARÍN SÁNCHEZ**

**T E S I S**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS**

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO.


**2010**

La presente tesis titulada: **Producción de semilla de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) libre de virus mediante el manejo de insectos vectores** realizada por el alumno **José Marín Sánchez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS  
FITOSANIDAD  
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA**


**CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERO:   
DR. HIRAM BRAVO MOJICA

ASESOR:   
DR. DANIEL L. OCHOA MARTÍNEZ

ASESOR:   
DR. AURELIANO PEÑA LOMELÍ

ASESOR:   
DRA. RAQUEL ALATORRE ROSAS

ASESOR:   
DR. JOSÉ LÓPEZ COLLADO

ASESOR:   
DR. JORGE A. GUTIÉRREZ ESPINOSA

Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 5 de julio de 2010.

**PRODUCCIÓN DE SEMILLA DE TOMATE DE CÁSCARA (*Physalis ixocarpa* Brot.)  
LIBRE DE VIRUS MEDIANTE EL MANEJO DE INSECTOS VECTORES**

**José Marín Sánchez, Dr.**

**Colegio de Postgraduados, 2010**

El tomate de cáscara ocupa el cuarto lugar dentro de las hortalizas en México, sin embargo la investigación en esta especie es escasa, particularmente en el proceso de producción de semilla. Este trabajo se realizó en el Campo Experimental del Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo y en un invernadero de la Universidad Autónoma Chapingo. Este último se mantuvo libre de áfidos sembrado con tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) variedad CHF<sub>1</sub>-Chapingo. Los objetivos de este trabajo fueron identificar los virus transmitidos por semilla, conocer el porcentaje de semillas infectadas de plantas asintomáticas mediante el ensayo serológico ligado a enzimas en doble sándwich (DAS-ELISA), así como para evaluar diferentes tratamientos en el manejo de insectos vectores de virus de esta hortaliza, para producir semilla con calidad física, fisiológica, genética y sanitaria libre de los virus *Alfalfa mosaic alfamovirus* (virus mosaico de la alfalfa, AMV), *Cucumber mosaic cucumovirus* (mosaico del pepino, CMV) y *Tobacco etch potyvirus* (virus jaspeado del tabaco, TEV). Los tratamientos aplicados fueron: 1. Combate convencional de plagas; 2. Manejo biorracional de plagas; 3. Manejo convencional de plagas más aplicaciones de miel al 2 %; 4. Obtención de semilla en invernadero libre de insectos y 5. Testigo.

Los resultados indican la presencia de los virus *Alfalfa mosaic alfamovirus* (virus mosaico de la alfalfa, AMV), *Cucumber mosaic cucumovirus* (virus mosaico del pepino, CMV) y *Tobacco etch potyvirus* (virus jaspeado del tabaco, TEV) en muestras tomadas de plantas con síntomas de virosis, así como en semilla de plantas asintomáticas. Por otra parte, en el invernadero libre de insectos vectores, se logró obtener semilla con mayor calidad genética, física, fisiológica y sanitaria libre de estos virus.

**Palabras clave:** *Physalis ixocarpa*, tomate de cáscara, calidad de semilla, AMV, CMV, TEV

# SEED PRODUCTION OF HUSK TOMATO (*Physalis ixocarpa* Brot.) FREE OF VIRUSES THROUGH OF MANAGEMENT OF INSECT VECTORS

**José Marín Sánchez, Dr.**  
**Colegio de Postgraduados, 2010**

The husk tomato occupies the fourth place among the horticultural species. The investigation in this species is still scarce, particularly about the processes of seed production.

The experiment was conducted in an experimental plot at Colegio de Postgraduados and at the Universidad Autonoma Chapingo in a greenhouse free of aphids, with husk tomato (*Physalis ixocarpa* Brot.) Variety CHF1-Chapingo. The purpose of this research was to determine if viruses were transmitted by seeds and to know the transmission through seed of asymptomatic plants and evaluate different treatments to control physical, physiological, and genetic traits, as well as virus-free plants regarding *Alfalfa mosaic alfamovirus* (AMV), *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) and *Tobacco etch potyvirus* (TEV). The treatments were: 1. Conventional pest control, 2. Bio rational control, 3. Conventional pest management with a 2 % honey spraying, 4. Seed production in an insect free greenhouse, and 5. Control. The detection of viruses was carried out with double sandwich enzyme-linked immunoadsorbent assay (DAS-ELISA) serological test.

The serological analyses indicated presence of mixed infections with the virus *Alfalfa mosaic alfamovirus*, *Cucumbre mosaic cucumovirus* and *Tobacco etch potyvirus*, in plants with symptoms of viruses and in seeds obtained from asymptomatic plants. The transmission of TEV is reported for the first time by seed in husk tomato. However, in the vector-free greenhouse, it was able to obtain better quality seed genetics, physical, physiological and virus-free plants.

**Key words:** *Physalis ixocarpa*, husk tomato, seed quality, AMV, CMV, TEV

## AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** (CONACYT), por el apoyo económico brindado durante la realización de mis estudios de Maestría y Doctorado.

Al **Colegio de Postgraduados** por haberme brindado la oportunidad de continuar con mi formación académica.

Mi admiración y agradecimiento al **Dr. Hiram Bravo Mojica**, Profesor-Investigador Emérito, por haber encausado mi formación profesional en el Doctorado, por la excelente conducción del presente trabajo, por sus consejos y paciencia, así como por sus innumerables muestras de sencillez, que forman parte de su inigualable calidad humana y profesional.

Al **Dr. Daniel L. Ochoa Martínez**, por su valiosa participación como asesor, por su apoyo incondicional, material y equipo de laboratorio, asesorías, aportaciones, recomendaciones y por enseñarme lo que hasta ahora conozco de virus fitopatógenos, que son parte primordial del presente trabajo.

Al **Dr. Aureliano Peña Lomelí**, quién una vez más, a pesar de sus múltiples ocupaciones, siempre mostró su gran disponibilidad, esfuerzo y dedicación, así como por su distinguida participación en el presente trabajo.

A la **Dra. Raquel Alatorre Rosas**, por su valiosa participación como asesora, por sus aportaciones, consejos y paciencia. Por motivarme y alentarme a seguir adelante hasta alcanzar los objetivos trazados cada vez que me percibía decaído.

Al **Dr. José López Collado**, por su valiosa participación como asesor, por su apoyo incondicional en todo momento, por sus aportaciones y recomendaciones que contribuyeron al buen término del presente trabajo.

Al **Dr. Jorge A. Gutiérrez Espinosa**, por su valiosa participación como asesor, por sus sugerencias y acertadas asesorías en el diseño del área confinada dentro del invernadero.

Al **Dr. Aquiles Carballo Carballo**, con gratitud por los conocimientos transmitidos, por su apoyo incondicional durante mis estudios de postgrado, por su sencillez, por haber formado parte del jurado examinador en mis exámenes de obtención de grado de Maestría y Doctorado.

Al **Dr. J. Apolinar Mejía Contreras**, por los conocimientos transmitidos, por haber encausado mi formación profesional de manera excepcional durante la Maestría y haber sido fundamental en la continuación de mis estudios de Doctorado, por su gran espíritu de colaboración, por su sencillez y calidad humana, por sus consejos.

## CONTENIDO

	Página
RESUMEN .....	ii
ABSTRACT.....	iii
CONTENIDO.....	vi
LISTA DE CUADROS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xii
<b>CAPITULO 1. EL TOMATE DE CÁSCARA (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) .....</b>	<b>1</b>
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	3
HIPÓTESIS.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
GENERALIDADES DEL TOMATE DE CÁSCARA.....	4
Origen.....	4
Taxonomía.....	4
Morfología.....	4
PLAGAS DEL TOMATE DE CÁSCARA.....	5
ENFERMEDADES DEL TOMATE DE CÁSCARA.....	6
Hongos.....	6
Virus.....	6
PRODUCCIÓN DE SEMILLA DE TOMATE DE CÁSCARA.....	9
Requerimientos ambientales.....	9
Época de siembra.....	9
Selección del terreno.....	9
Preparación del terreno.....	10
Establecimiento.....	10
Fertilización.....	11

Riego.....	11
Labores de cultivo.....	12
Control de plagas y enfermedades.....	13
Cosecha.....	13
Acondicionamiento.....	14
CALIDAD DE SEMILLA.....	15
Calidad genética.....	15
Calidad física.....	15
Calidad fisiológica.....	15
Calidad sanitaria.....	17
LITERATURA CITADA.....	18

**CAPITULO 2. TRANSMISIÓN DE VIRUS EN SEMILLA DE PLANTAS ASINTOMÁTICAS DE TOMATE DE CÁSCARA (*Physalis ixocarpa* Brot.).....**

RESUMEN.....	24
ABSTRACT.....	25
INTRODUCCIÓN.....	26
MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
Obtención de progenitores.....	27
Producción de semilla (primer ciclo).....	28
Prueba de detección de virus en plántulas con síntomas (primer ciclo).....	29
Prueba de detección de virus en plantas con síntomas (primer ciclo).....	29
Producción de semilla (segundo ciclo).....	29
Aislamiento de plantas asintomáticas para producción de semilla .....	30
Polinización (segundo ciclo).....	30
Prueba de detección de virus en plantas asintomáticas.....	31
Prueba de detección de virus en semilla.....	31
Tratamientos y diseño experimental.....	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32



Primer ciclo de producción.....	32
Segundo ciclo de producción.....	34
CONCLUSIONES.....	39
LITERATURA CITADA.....	41
<b>CAPITULO 3. OBTENCIÓN DE SEMILLA DE TOMATE DE CÁSCARA</b> <b>(<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) LIBRE DE VIRUS.....</b>	<b>43</b>
RESUMEN.....	43
ABSTRACT.....	44
INTRODUCCIÓN.....	45
MATERIALES Y MÉTODOS.....	47
Obtención de progenitores.....	48
Proceso de producción de semilla.....	48
Producción de plántulas.....	49
Transplante.....	51
Tratamientos aplicados y diseño experimental.....	51
Conducción del experimento.....	53
Obtención de semilla.....	55
Variables evaluadas en el proceso de producción de semilla.....	55
Pruebas de calidad sobre la semilla producida.....	55
Pruebas de calidad física.....	56
Pruebas de calidad fisiológica.....	56
Pruebas de calidad sanitaria.....	58
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	58
Obtención de progenitores en invernadero.....	58
Proceso de producción de semilla.....	59
Pruebas de calidad de la semilla producida.....	62
Pruebas de calidad física.....	63
Pruebas de calidad fisiológica.....	65
Pruebas de calidad sanitaria.....	68

CONCLUSIONES.....	73
LITERATURA CITADA.....	75
<b>CONCLUSIONES GENERALES.....</b>	<b>79</b>

## LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Cuadro 1. Cuadrados medios y significancia estadística en el porcentaje de transmisión de los virus <i>Alfalfa mosaic alfamovirus</i> (AMV), <i>Cucumber mosaic cucumovirus</i> (CMV) y <i>Tobacco etch potyvirus</i> (TEV) en 40 muestras compuestas de 10 semillas/fuente...	35
2	Efecto promedio de las diferentes fuentes de semilla de tomate de cáscara sobre el porcentaje de transmisión de los virus <i>Alfalfa mosaic alfamovirus</i> (AMV), <i>Cucumber mosaic cucumovirus</i> (CMV) y <i>Tobacco etch potyvirus</i> (TEV) en 40 muestras compuestas de 10 semillas/fuente.....	36
3	Valores de absorbancia obtenidos mediante la prueba de detección del virus TEV en semillas de plantas asintomáticas de tomate de cáscara.....	38
4	Valores de absorbancia obtenidos mediante la prueba de detección del virus CMV en semillas de plantas asintomáticas de tomate de cáscara.....	38
5	Valores de absorbancia obtenidos mediante la prueba de detección del virus AMV en semillas de plantas asintomáticas de tomate de cáscara.....	39
6	Cuadro 6. Cuadrados medios y significancia estadística de la presencia de áfidos en los diferentes tratamientos aplicados en la producción de semilla de tomate de cáscara.....	60
7	Efecto promedio de los diferentes tratamientos relativos a la presencia de áfidos en tomate de cáscara.....	60
8	Cuadro 8. Cuadrados medios y significancia estadística en las variables peso de mil semillas y peso volumétrico como pruebas de calidad física de la semilla producida.....	63
9	Efecto promedio de los diferentes tratamientos relativos a la calidad física de la semilla de tomate de cáscara.....	64
10	Cuadro 10. Cuadrados medios y significancia estadística relativos a la calidad fisiológica de la semilla de tomate de cáscara.....	65

11	Efecto promedio de los diferentes tratamientos relativos a la calidad fisiológica de la semilla de tomate de cáscara.....	66
12	Cuadro 12. Cuadrados medios y significancia estadística en el porcentaje de transmisión de los virus <i>Alfalfa mosaic alfamovirus</i> (AMV), <i>Cucumber mosaic cucumovirus</i> (CMV) y <i>Tobacco etch potyvirus</i> (TEV) en 40 muestras compuestas de 10 semillas/tratamiento.....	69
13	Efecto promedio de los diferentes tratamientos relativos al porcentaje de transmisión de los virus <i>Alfalfa mosaic alfamovirus</i> (AMV), <i>Cucumber mosaic cucumovirus</i> (CMV) y <i>Tobacco etch potyvirus</i> (TEV) en 40 muestras compuestas de 10 semillas/tratamiento.....	70

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Síntomas observados en plantas de <i>Physalis ixocarpa</i> procedentes de semillas obtenidas de plantas libres de insectos: A) Amarillamiento foliar y achaparramiento; B) Severa deformación y clorosis foliar; C) Rugosidad foliar y clorosis de nervaduras D) Proliferación de hojas filiformes y clorosis foliar.....	33
2	Producción de semilla en plantas asintomáticas de tomate de cáscara en invernadero.....	34
3	Incidencia de los virus presentes en la semilla de tomate de cáscara.....	37
4	Producción de plántulas de tomate de cáscara destinadas a ser trasplantadas a campo abierto.....	49
5	Jaula anti-insectos diseñada y colocada dentro del invernadero para producir plántulas y semilla de tomate de cáscara.....	50
6	Producción de plántulas de tomate de cáscara destinadas a producir semilla en invernadero.....	50
7	Plantación establecida en invernadero e hidroponía para la obtención de progenitores de tomate de cáscara.....	59
8	Producción de semilla de tomate de cáscara en invernadero libre de insectos.....	61
9	Manejo biorracional de plagas en el cultivo de tomate de cáscara a campo abierto.....	62
10	Prueba de germinación de la semilla obtenida en el área confinada dentro del invernadero y el testigo.....	66
11	Producción de semilla libre de virus en invernadero.....	71
12	Síntomas observados en el cultivo de <i>Physalis ixocarpa</i> establecido a campo abierto en el Colegio de Postgraduados: A) Amarillamiento foliar asociado al AMV; B) Amarillamiento foliar y enanismo asociado al AMV; C) Severa deformación y clorosis foliar asociada al TEV y CMV; D) Rugosidad foliar y clorosis de nervaduras asociadas al TEV.....	72

## CAPÍTULO 1. EL TOMATE DE CÁSCARA (*Physalis ixocarpa* Brot.)

### INTRODUCCIÓN

En los últimos años las hortalizas han cobrado en México un auge desde el punto de vista de la superficie sembrada, así como en el aspecto social debido a la gran demanda de mano de obra que se genera (Valadez, 1996). El tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) ocupa el cuarto lugar en cuanto a superficie sembrada de esta hortaliza (60, 500 ha) en 26 de los 32 Estados de la República Mexicana (PRODUCE, 2005). Dada la demanda de semilla de tomate de cáscara, es importante conocer los problemas inherentes a su producción. No obstante que el mejoramiento genético de esta especie se inició a principio de 1970 (Martínez *et al.*, 2004), actualmente se tiene un número limitado de variedades, entre las que pueden mencionarse: Rendidora, Tamazula (Pérez *et al.*, 1998), Cerro Gordo, Verde Puebla (Armenta, 1999), así como CHF<sub>1</sub>-Chapingo, entre otras.

En nuestro país la producción de semilla de tomate de cáscara se realiza generalmente bajo tres esquemas (Martínez *et al.*, 2004):

1. Producción de semilla de variedades nativas, las cuales después de haber sido cultivadas en lotes comerciales para fruto, son utilizadas finalmente para extraer semilla por los propios productores, o bien, por empresas que adquieren la producción de dichos lotes, de donde obtienen semilla de mala calidad y no certificada.
2. Existen personas o empresas particulares que aprovechan parcelas abandonadas y en malas condiciones sanitarias, para comprar el fruto y obtener la semilla; misma que resulta de pésima calidad.
3. Programas formales de producción, donde las empresas se apegan a las normas oficiales de producción de semillas, las que en conjunto representan una parte minoritaria de las que son sembradas.

De manera general, se tiene el problema de producir semilla no certificada de baja calidad física, fisiológica, genética y sanitaria. La baja calidad de la semilla es una de las causas importantes de rendimiento nacional promedio de  $14.5 \text{ ton}\cdot\text{ha}^{-1}$  para riego (INIFAP, 2004), mismo que discrepa del rendimiento potencial de  $55 \text{ ton}\cdot\text{ha}^{-1}$  (Martínez *et al.*, 2004). Los problemas ocasionados por plagas y enfermedades son de suma importancia, especialmente el “amarillamiento”, que debido a sus daños tan severos y recurrentes, ha ocasionado que muchos productores hayan dejado de sembrar este cultivo (INIFAP, 2004; PRODUCE, 2005).

El amarillamiento es un complejo causado principalmente por uno o más virus transmitidos por diferentes especies de insectos vectores, principalmente por áfidos (INIFAP, 2004) y probablemente por semilla.

Algunos virus que atacan el tomate de cáscara son los siguientes:

a) *Alfalfa mosaic virus* (virus mosaico de la alfalfa, AMV). Se transmite mecánicamente, por áfidos de manera no persistente (Hull, 2002), polen y por semilla en alfalfa (Kado y Agrawal, 1972 y Johansen *et al.*, 1994), pudiendo causar pérdida total de la cosecha en tomate de cáscara (INIFAP, 2004; PRODUCE, 2005).

b) *Tobacco etch potyvirus* (virus jaspeado del tabaco, TEV). Transmitido de forma mecánica y por áfidos de manera no persistente (Hull, 2002). El fruto no alcanza el tamaño comercial (INIFAP, 2004), debido a este virus, el más frecuentemente encontrado en el Estado de México (De la Torre *et al.*, 2002). Según Fauquet *et al.* (2005) no hay reportes de transmisión por semilla.

c) *Cucumber mosaic virus* (virus mosaico del pepino, CMV). Se transmite por áfidos, principalmente *Myzus persicae* (Hull, 2002), así como por semilla en varios cultivos (Johansen *et al.*, 1994). En tomate de cáscara, muchas plantas mueren por esta causa (INIFAP, 2004). Aunque no hay reportes de su transmisión por semilla en este cultivo, es probable que ocurra.

Por lo anterior es necesario producir semilla libre de virus, debido a que se constituye como la fuente primaria de diseminación y perpetuación de estos patógenos, que en combinación con la presencia de insectos vectores puede causar pérdida total del cultivo, sobre todo porque no se cuenta con variedades resistentes.

## **OBJETIVOS:**

### General

Obtener semilla de tomate de cáscara con calidad física, fisiológica, genética y sanitaria libre de virus.

### Particulares

1. Obtener semilla inicial, de progenitores, mediante polinización libre.
2. Determinar los virus asociados a la semilla de tomate de cáscara.
3. Obtener semilla libre de virus mediante el manejo integrado del cultivo y cruza fraternal en condiciones controladas.

## **Hipótesis:**

1. El *Alfalfa mosaic alfamovirus* (Virus mosaico de la alfalfa, AMV) se transmite por semilla en tomate de cáscara.
2. El manejo de insectos vectores y del cultivo permite obtener semilla de tomate de cáscara con calidad genética, física, fisiológica y libre de virus.



## REVISIÓN DE LITERATURA

### GENERALIDADES DEL TOMATE DE CÁSCARA

#### Origen

Vavilov (1951) menciona que el centro de origen del tomate de cáscara es el sur de México. Peña y Márquez (1990) señalan que *Physalis ixocarpa* Brot, crece en forma silvestre entre los maizales donde subsisten sistemas tradicionales de producción que no implican el uso de herbicidas, recolectándose incluso para su venta.

#### Taxonomía

Según Benson (1957), el tomate de cáscara es una especie dicotiledónea, que pertenece a la familia Solanaceae; de las 80 especies del género *Physalis* que existen, son muy pocas las que se cultivan; entre ellas: *P. peruviana* L., *P. pruinosa* L., *P. ixocarpa* (Menzel, 1951; Saray, 1982).

#### Morfología

Saray y Loya (1977) describe a *Physalis ixocarpa* Brot., como una planta herbácea anual de 40 a 90 cm de altura, con un diámetro de tallo de 1.1 a 1.3 cm; raíces primarias de 0.8 a 0.9 cm. Las hojas son alternas, de forma ovalada; flor pentámera de color amarillo, con manchas tenues, o bien marcadas de matices azul-verdoso o morado. El fruto es una baya, el cáliz que cubre al fruto presenta 10 costillas.

Según Pandey (1957) la polinización se efectúa por medio de insectos, principalmente abejas. En esta planta no es posible la autofecundación debido a la autoincompatibilidad gametofítica que presenta, la cual está determinada por dos genes con múltiples alelos; comportándose como una alógama obligada.

## PLAGAS DEL TOMATE DE CÁSCARA

Existe una amplia variedad de insectos plaga de importancia en el cultivo del tomate, relacionados con diferentes factores; entre ellos se puede citar al periodo de siembra en el que se establece el cultivo, la exigencia del mercado de productos de calidad estética perfecta y por el manejo intensivo con un abundante uso de agroquímicos (PRODUCE, 2005).

Las principales plagas del tomate de cáscara son *Bactericera* (=Paratrioza) *cockerelli*, *Diabrotica undecimpunctata*, *Trialeurodes vaporariorum*, *Lema trilineata*, *Epitrix* sp., *Macrodactylus mexicanus* (Jiménez *et al.*, 1992), *Liriomyza* sp., (Cervantes, 1992), *Heliothis subflexa* (Martínez *et al.*, 2004), *Melanagromyza tomaterae* (Bautista y Morales, 2000), *Spodoptera exigua*, *Polyphagotarsonemus latus*, *Frankliniella* spp., *Myzus persicae* (PRODUCE, 2005) y *Trichobaris championi* (Bautista *et al.*, 2003).

Ramírez (2007) menciona en el estado de Puebla la presencia de áfidos de la especie *Acyrtosiphon pisum* alimentándose del envés de las hojas del tomate de cáscara, así como poblaciones de *Copitarsia decolora*, *Helicoverpa zea*, *Bemisia tabaci* y *Acalymma* sp.

Los áfidos se consideran como el grupo de insectos fitófagos más importantes de las hortalizas de las zonas templadas. Ocasionan daño de manera directa cuando succionan la savia e indirecta cuando transmiten enfermedades de origen viral. De este grupo, *M. persicae* es la más eficiente y polífaga en la transmisión de virus (Peña y Bujanos, 1992).

## ENFERMEDADES DEL TOMATE DE CÁSCARA

Las principales enfermedades documentadas en tomate de cáscara son ocasionadas por virus y hongos, cuyo manejo debe ser preventivo para evitar disminución de la cantidad y calidad de la producción.

### Hongos

Saray y Loya (1978) mencionan que en el estado de Morelos, la cenilla *Oidium* sp. daña al tomate de cáscara después de la floración y puede defoliar por completo las plantas, lo que ocasiona que los frutos queden expuestos al sol y caigan prematuramente.

Piña y Ponce (1990) señalan que el carbón u ojo de rana (*Entyloma australe*) ocasiona manchas blancas redondas en forma de pústulas que inician en las hojas inferiores y pueden cubrir toda la planta hasta defoliarla por completo. Mendoza (1996) menciona también los siguientes patógenos asociados al tomate de cáscara: *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Cercospora physalidis*. También existen reportes de la presencia de *Phytophthora infestans*, *Rhizoctonia solani* y *Pythium* sp. (PRODUCE, 2005).

### Virus

En tomate de cáscara, las enfermedades virales representan el mayor problema a nivel nacional tanto por el daño que causan al cultivo como por la dificultad que implica su control (PRODUCE, 2005; INIFAP, 2004, De la Torre *et al.*, 2002). Los síntomas más comunes son mosaicos de ligeros a severos, deformación o reducción de la lámina foliar, moteados amarillo y cálico, sobre brotación foliar, con reducción del tamaño de hojas y entrenudos, que ocasiona enanismo en la planta, epinastía media de hojas y diversos tipos de amarillamiento (De la Torre, 1996). Posteriormente, De la Torre *et al.* (2002) detectaron los siguientes virus en plantas

de tomate de cáscara: *Cucumber mosaic cucumovirus* (virus mosaico del pepino, CMV), *Tobacco mosaic tobamovirus* (virus mosaico del tabaco, TMV), *Tobacco etch potyvirus* (virus jaspeado del tabaco, TEV), *Tomato spotted wilt tospovirus* (virus de la marchitez manchada del tomate, TSWV) y *Tobacco ringspot nepovirus* (virus de la mancha anular del tabaco, TRSV). Posteriormente se logró aislar y caracterizar un virus transmitido por *M. persicae* que resultó ser una variante del *Alfalfa mosaic alfamovirus* (AMV) también en tomate de cáscara (De la Torre *et al.*, 2002).

***Alfalfa mosaic alfamovirus* (virus mosaico de la alfalfa, AMV).** Pertenece al género *Alfamovirus*, familia *Bromoviridae*, posee partículas basiliformes y es multipartito. Se transmite de manera mecánica (Hull, 2002), también de manera no persistente por más de 15 especies de áfidos y por semilla en alfalfa (Zadjali *et al.*, 2002) y en chile habanero (Tun, 2006).

Las plantas de tomate de cáscara infectadas con este patógeno muestran hojas con manchas cloróticas de color amarillo, por lo cual se le llama también mosaico cálico, además se observa aclaramiento de nervaduras, moteados cloróticos y acortamiento de entrenudos. En infecciones tempranas puede causar pérdida total (INIFAP, 2004).

***Tobacco mosaic tobamovirus* (virus mosaico del tabaco, TMV).** Pertenece al género *Tobamovirus*, la partícula viral tiene forma de varilla rígida de 300-310 nm de longitud y 18 nm de diámetro (Hull, 2002). Se transmite fácilmente por medios mecánicos (Agrios, 1989). Los síntomas inducidos en tomate de cáscara consisten en un moteado clorótico en las hojas senescentes y un moteado con o sin malformación de los folíolos. Las infecciones de las plantas jóvenes inhiben la formación de los frutos y en ocasiones se producen manchas cloróticas (INIFAP, 2004).

***Tobacco etch potyvirus* (virus jaspeado del tabaco, TEV).** Pertenece al género *Potyvirus*, familia *Potyviridae*. Las partículas virales tienen forma de varilla flexible

con 680-900 nm de longitud y 11-13 nm de diámetro. Es un virus que se transmite mecánicamente y por áfidos de manera no persistente (Hull, 2002), pero no por semilla (Fauquet *et al.*, 2005).

Los síntomas aparecen en tomate de cáscara como un moteado clorótico y rugosidad de las hojas. Las plántulas infectadas en estado de plántula tienen muy poco crecimiento y el fruto no alcanza el tamaño comercial. Hay una alta correlación entre la edad de la planta en que es infectada y el número y tamaño de los frutos producidos; a infecciones tempranas, menor rendimiento (INIFAP, 2004).

***Cucumber mosaic cucumovirus* (virus mosaico del pepino, CMV).** De la familia *Bromoviridae*, género *Cucumovirus*, son virus de partículas isométricas de alrededor de 30 nm de diámetro, transmitidos por áfidos de manera no persistente (Hull, 2002) y según Guillaspie *et al.* (1998) por semilla en frijol de cuerno (*Vigna unguiculata* L.).

En tomate de cáscara provoca achaparramiento, disminuye la producción en cantidad y calidad. Cuatro o cinco días después de haberse producido la inoculación, las hojas jóvenes en proceso de desarrollo muestran moteado, se deforman, arrugan y sus bordes comienzan a enrollarse. Todo crecimiento posterior disminuye drásticamente y las plantas se quedan enanas debido a que los entrenudos y pecíolos del tallo se acortan. Estas plantas forman pocas flores y frutos, su aspecto es de racimo o arbusto y sus hojas se agrupan a manera de roseta (INIFAP, 2004).

***Tomato spotted wilt tospovirus* (virus de la marchitez manchada del tomate, TSWV).** Este virus, del género *Tospovirus*, se clasifica dentro de la familia *Bunyaviridae*, la partícula viral es de forma esférica con envoltura y es transmitido por medio de trips de manera circulativa propagativa (Hull, 2002). En las hojas de tomate de cáscara causan bronceado y crecimiento unilateral; posteriormente el follaje se torna clorótico, aparece una atrofia y severa necrosis (INIFAP, 2004).

## **PRODUCCIÓN DE SEMILLA DE TOMATE DE CÁSCARA**

### **Requerimientos ambientales**

El tomate de cáscara desarrolla en condiciones de pH de 6-7, temperaturas de 20 a 30 °C para la germinación y de 22 a 25 °C para el crecimiento vegetativo. En la etapa de floración requiere de 30 a 32 °C. Las etapas críticas en cuanto a requerimientos de humedad corresponden a la germinación y emergencia, así como al trasplante. Durante el resto del ciclo, incluyendo la floración, necesita de un 60 % de la capacidad hídrica del suelo (Saray y Loya, 1977).

### **Época de siembra**

La época de siembra se asocia con el período libre de heladas, o bien, de temperaturas excesivas, de acuerdo con la zona productora. La época de siembra definida para la producción de fruto, es la misma que han adoptado los productores de semilla. En el estado de Morelos la siembra directa se realiza a partir de la segunda quincena de mayo hasta mediados de diciembre (Cruz, 1991; Velásquez, 1993; Tamayo, 1998); mientras que en el estado de Hidalgo, se establecen almácigos en febrero y marzo. Este mismo período se recomienda para el área de Chapingo, Atenco y San Andrés, en Texcoco, México (Martínez *et al.*, 2004).

### **Selección del terreno**

El primer paso para obtener éxito en un programa de producción de semilla de buena calidad, es seleccionar un terreno que pueda brindarle al cultivo las condiciones necesarias para su buen crecimiento y desarrollo. Bajo estas circunstancias, el Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS) establece ciertas normas generales aplicables para la mayoría de los cultivos. Por ejemplo, es de suma importancia ubicar lotes de producción de semilla donde la incidencia de plagas y enfermedades pueda ser mínima, particularmente

cuando existen fitopatógenos que pueden ser transmitidos por semilla (Martínez *et al.*, 2004).

Debido a que el tomate de cáscara presenta autoincompatibilidad gametofítica, se comporta como alógama obligada, en la que la polinización se realiza por el viento e insectos (Pérez *et al.*, 1998), aún de plantas ubicadas a una distancia hasta de 500 m (Vásquez, 1979), de ahí que, es estrictamente necesario que el lote de producción de semilla certificada esté aislado de otros terrenos cultivados con la misma especie. Para evitar la contaminación genética debe haber una distancia mínima de un kilómetro de otros lotes de tomate de cáscara (Güemes, 1999) y hasta 5000 m como mínimo cuando se trate de parcelas de semilla original (Cruz, 2001).

### **Preparación del terreno**

El surcado comúnmente se realiza a una distancia de un metro (Güemes, 1999), aunque en algunos casos se puede hacer a 1.25 m (Garzón y Garay, 1977) e inclusive de 1.2 a 1.8 m entre surcos en sistemas de riego por goteo, en donde por cierto, se recomienda plantar a doble hilera colocando una planta por mata cada 20 cm (Martínez *et al.*, 2004).

### **Establecimiento**

Puede llevarse a cabo en siembra directa o bien por trasplante, siendo este último el método más utilizado y también el más recomendado para los programas de producción de semilla, ya que un buen manejo del material en almácigo, permite contar con plántulas vigorosas y uniformes. En el área de Chapingo se utilizan 150 charolas de 200 cavidades para plantar una hectárea en surcos de un metro de ancho, plantando tres matas por metro lineal (Martínez *et al.*, 2004).

El momento oportuno del trasplante se alcanza cuando la plántula tiene de tres a cuatro hojas verdaderas (Güemes, 1999) o bien realizarlo a edades de 15, 22 y 29 d (Peña *et al.*, 1991). Respecto a la densidad de población y arreglo topológico, en el estado de Morelos el surcado se hace a un metro y deben colocarse dos plantas cada 60 cm para una densidad de 33, 333 plantas por hectárea (Güemes, 1999), en Chapingo, México se emplean surcos de un metro y distancias entre plantas de 20 cm para una densidad de 50, 000 plantas por hectárea (Castillo *et al.*, 1991).

## **Fertilización**

Lazcano (2000) menciona que factores como la semilla, densidad de población, disponibilidad de agua, labores culturales, control de plagas, enfermedades y malezas, pueden afectar el resultado de la fertilización. Por ello, Jorn (1999) afirma que el uso adecuado de ésta, influye en el rendimiento y calidad de la semilla.

La fertilización depende de la fertilidad del suelo, pero es importante destacar que se requiere de al menos 3.8 kg de nitrógeno aprovechable para producir una tonelada de fruto de tomate de cáscara (Castro *et al.*, 2001). Para las condiciones de Chapingo, México, la mejor fórmula de fertilización para producir semilla de tomate de cáscara es 160-80-80 ó 160-40-00, aplicando al trasplante todo el fósforo y potasio así como 50 % de nitrógeno; el 50 % de éste último se aplica a los 40 d después de la primera fertilización (Cruz, 2001).

## **Riego**

En los lotes de producción de semilla no debe faltar el agua durante la germinación, el trasplante, antes y durante la floración, así como durante el desarrollo y maduración del fruto, esto para garantizar la formación de suficientes frutos y semillas de calidad (Güemes, 1999).



El número de riegos depende de las condiciones ambientales y de las características del suelo del lote (Romero, 2000). Como referencia, en Chapingo, México, se ha observado que el cultivo requiere entre siete y nueve riegos (Tamayo, 1998; Romero, 2000). El primero debe ser pesado para facilitar el trasplante; de tres a cuatro días después es necesario un riego ligero para el buen establecimiento de las plántulas, posteriormente se sugiere que los riegos se realicen en intervalos de diez días (Martínez *et al.*, 2004).

### **Labores de cultivo**

Es importante que el cultivo permanezca libre de malezas durante los primeros 35 a 40 d después del trasplante (Güemes, 1999), motivo por el cual se llevan a cabo tres o más deshierbes, el primero a los 10 y 15 d después del trasplante, el segundo entre los 30 y 40 d (Arroyo, 1999), el resto depende de la tasa de crecimiento de las malezas, además que se debe facilitar la cosecha (Martínez *et al.*, 2004). Se requieren dos pasos de cultivadora alrededor de los 30 y 45 d después del trasplante (Cruz, 1991).

Desde el momento de la siembra en el almácigo y durante todo el desarrollo del cultivo, especialmente al inicio de la floración se deben realizar inspecciones minuciosas para eliminar las plantas que no reúnan las características particulares de la variedad que se está incrementando, es decir, eliminar las plantas fuera de tipo para garantizar la calidad genética de la semilla, para lo cual es indispensable contar con lotes limpios y evitar al máximo mezclas mecánicas, de lo contrario plantas de otros genotipos pueden contaminar con su polen a la variedad objetivo. Para cumplir con este objetivo se requiere de personal capacitado, que conozca las características morfológicas de la variedad que se está incrementando.

## **Control de plagas y enfermedades**

El ataque de plagas y enfermedades puede representar pérdida total de la cosecha, por lo que se requiere tener particular cuidado al respecto. Es claro que la producción de semillas se debe realizar con un manejo estricto y eficaz, sobre todo con aquellos insectos vectores de virus, así como de patógenos transmitidos por semilla (Martínez *et al.*, 2004) buscando siempre su prevención mediante técnicas de manejo seleccionadas en un programa de manejo, en donde el método cultural, principalmente el preventivo, el control biológico y el control legal, sean en los que se base el programa y que el control químico sea, la última estrategia a considerar (PRODUCE, 2005).

El control de insectos vectores, la eliminación de plantas enfermas, evitar cosechar frutos dañados o provenientes de plantas con daños y el manejo de fechas de siembra pueden ser los mecanismos para prevenir la incidencia de enfermedades (Martínez *et al.*, 2004), que son la principal causa de pérdida total de la producción e incluso han propiciado que muchos agricultores hayan dejado de sembrar esta especie (INIFAP, 2004; PRODUCE, 2005, De la Torre *et al.*, 2002).

## **Cosecha**

La mayor calidad de semilla se obtiene cuando ésta alcanza su madurez fisiológica (Copeland, 1976); para tal propósito debe permanecer en el fruto por lo menos 15 d después de que éste ha alcanzado su madurez comercial (Osuna *et al.*, 1992). Se ha observado que a los 21 d después de la madurez comercial la semilla tiene un buen peso y calidad (Hernández y Hernández, 1995).

También se ha establecido que la madurez comercial de la semilla se obtiene cuando el fruto toma una coloración amarillenta (Güemes, 1999) y la semilla tiene un color parduzco y café, de ahí que éstos sean un par de indicadores de madurez

de semilla que se han aplicado recientemente en muchos lotes de producción de semilla en Chapingo y en el estado de Morelos (Martínez *et al.*, 2004).

En las parcelas destinadas exclusivamente para producir semilla en Morelos es recomendable llevar a cabo solamente dos cortes; el primero a los 56 d después del trasplante (Güemes, 1999) o bien, en Chapingo, México 21 d después de que la planta tenga, en promedio, tres frutos completamente maduros (Peña *et al.*, 1997).

La extracción de semilla de parcelas comerciales se hace con una despulpadora, provista de un gusano sinfín o una estructura de aspas, que rompen los frutos y generan una mezcla que se envía a tinas con agua para decantar impurezas y seleccionar semilla de buena calidad (George, 1983).

### **Acondicionamiento**

El objetivo del acondicionamiento de semilla es obtener, de la cantidad total de semilla disponible, solamente aquel volumen que cumpla con las normas de calidad vigentes. En este sentido después de realizar la molienda de los frutos en la despulpadora, las semillas útiles deben ser secadas a la sombra para que alcancen 11 % de humedad (Santiaguillo y López, 1992). A lo que sigue el empleo de una cribadora con una malla de perforaciones redondas de 1.5 mm, con lo cual se obtiene semilla de tamaño medio que tiene mejor calidad que aquella que logra pasar la misma criba y que finalmente se clasifica como pequeña; cuando el primer grupo de semillas es sometido a una clasificación por peso en una mesa de gravedad, en la que se eliminan las semillas medianas de peso ligero, también aumenta la calidad de semilla del lote, ya que se mejora el vigor (Martínez *et al.*, 2004).

El uso de maquinaria para el acondicionamiento de semilla permite hacer más eficiente este proceso y mejora la calidad de los lotes; además de la limpieza, la clasificación de la semilla incrementa la calidad fisiológica (Villegas, 1995).

## **CALIDAD DE SEMILLA**

La calidad de la semilla es un concepto múltiple que involucra todas aquellas características que determinan su valor para la siembra (Hampton, 2002), en donde la calidad genética, física, fisiológica y sanitaria juegan un papel importante (Copeland y McDonald, 1995). El proceso para la obtención de semilla de alta calidad es una parte importante y costosa del componente tecnológico en la producción, por lo que debe hacerse con cuidado, para garantizar la obtención del producto con la calidad requerida por el mercado (Basra, 1995).

### **Calidad genética**

Son todas las características inherentes sobresalientes que determinan la variedad (Hampton, 2002).

### **Calidad física**

Se refiere a las características físicas de las semillas que son consideradas como factores de calidad, tales como: contenido de humedad, su peso por volumen, pureza y peso de mil semillas (Basra, 1995).

### **Calidad fisiológica**

Se refiere a la viabilidad de las semillas o al potencial que éstas tienen para la germinación, incluyendo el vigor; como resultado de la expresión de factores propios del genoma de la variedad (Basra, 1995).

Durante la formación de la semilla el contenido de humedad se reduce y la germinabilidad aumenta, comportamiento denominado como adquisición de tolerancia al secado. Según Kermodé (1995), el secado de semillas durante su desarrollo actúa como una señal que activa su capacidad germinativa. Corbineau *et*

*al.* (2000) señalan que las semillas inmaduras pueden tolerar mejor la deshidratación con aire del ambiente porque la pérdida de agua es más lenta que con aire caliente, de modo que ocurre menor daño a la integridad celular, o porque favorece los mecanismos de reparación de los daños estructurales asociados con la desecación.

En tomate de cáscara el secado eleva la capacidad germinativa de las semillas, tanto inmaduras como maduras, cualquiera que sea su etapa de desarrollo. Por lo tanto, es posible realizar la cosecha de las semillas de tomate de cáscara, a partir de los 42 d después de la floración y con secado alcanza una germinación > 90 % y los contenidos de sacarosa y rafinosa aumentan con la edad de la semilla. Sin embargo, el secado afecta negativamente el vigor de la semilla (Pérez *et al.*, 2008).

De hecho, en la mayoría de las semillas ortodoxas, la acumulación inicial de sacarosa y rafinosa coincide con la fase en la cual el embrión adquiere tolerancia a la desecación, razón por la cual Cochrane (2000) postuló que estos azúcares hacen posible que el embrión sea viable a muy bajos potenciales hídricos.

A nivel molecular, la cristalización de sacarosa durante el secado permite la formación de un estado vídrioso que contribuye a proteger la integridad de la membrana, porque los grupos hidroxilos de los azúcares sustituyen al agua y estabilizan los lípidos de la membrana (Koster *et al.*, 1994; Cochrane, 2000).

Además, la sacarosa y la rafinosa se hallan en concentraciones altas en los tejidos seminales involucrados en el proceso de germinación, por lo que se considera que contribuyen a la germinación de las semillas como combustibles del metabolismo inicial que induce la respiración y el alargamiento del eje embrionario (Kigel y Galili, 1995; Yordanov *et al.*, 2003).

Se puede inferir entonces, que la acumulación paulatina de estos dos azúcares solubles durante el desarrollo de la semilla de tomate de cáscara, estabiliza los

lípidos de membrana y mejora el desarrollo del embrión durante la germinación (Pérez *et al.*, 2008).

### **Calidad sanitaria**

Se refiere a la ausencia de microorganismos patógenos que se transmiten por la propia semilla (Basra, 1995).

Además, la semilla de buena calidad tiene las siguientes características: es genéticamente fiel a la especie o cultivar; capaz de un porcentaje elevado de germinación; está libre de insectos, patógenos y de mezclas con semillas de otros cultivos, semillas de malezas y de material inerte y extraño (Hartmann y Kester, 1994).

## LITERATURA CITADA

- Agrios, N. G. 1989. Fitopatología. Editorial LIMUSA. México. 756 p.
- Armenta, C. C. M. 1999. Producción de Tomatillo en el Valle del Mayo. *In*: 500 Tecnologías Llave de Mano. División Agrícola, Tomo II Editorial SAGAR. INIFAP. pp 108-109.
- Arroyo, P. J. 1999. Fertilización en el Cultivo de Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) con Base en el Análisis de Suelos. Tesis profesional. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 76 p.
- Basra, A. S. 1995. Seed Quality: Basic Mechanisms and Agricultural Implications. Food Products Press. New York, United States of America. 389 p.
- Bautista, M. N. y O. Morales G. 2000. *Melanagromyza tomaterae* Steykal (Diptera: Agromyzidae) Plaga del Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en México. Nota científica. Fol. Entomol. Mex. 110: 129-130.
- Bautista, M. N.; L. M. Hernández F., y C. Llanderal C. 2003. Insectos de Importancia Agrícola Poco Conocidos en México. Publicación Especial No. 1. Instituto de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados. México. 33 p.
- Benson, L. 1957. Plant Classification. Heath and Co. Boston. Boston, D. C. 688 p.
- Castillo, P. I.; A. Peña L. y R. A. Cruz G. 1991. Densidad de Población, Sistemas de Manejo y Arreglos Topológicos en Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Rev. Chapingo. 73-74: 53-56.
- Castro, B. R.; P. Sánchez; A. Galvis S.; A. Peña L. y M. Sandoval V. 2001. Demanda de Nitrógeno en Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Hort. Mex. Vol. 8 (3): 18-26.
- Cervantes, M. J. F. 1992. Insectos Chupadores y Minadores que Afectan Hortalizas. *In*: Anaya R., S., N. Bautista M. y B. Domínguez R. (Eds.) Manejo Fitosanitario de las Hortalizas en México. Centro de Entomología y Acarología. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. Pp. 15-18.

- Cochrane, M. P. 2000. Seed Carbohydrates. *In*: Black M, Bewley JD (Eds.) Seed Technology and its Biological Basis. Sheffield Academic Press. Sheffield, UK. pp. 85-120.
- Copeland, L. O. 1976. Principles of Seed Science and Technology. Burgess Publishing Company, Minnesota, United States of America. 343 p.
- Copeland, L. O. and M. B. McDonald. 1995. Principles of Seed Science and Technology. Third edition. Chapman and Hall. New York, United States of America. 321 p.
- Corbineau, F.; M. A. Picard.; J. A. Fougereux.; F. Ladonne and D. Côme. 2000. Effects of Dehydration Conditions on Desiccation Tolerance of Developing Pea Seeds as Related to Oligosaccharide Content and Cell Membrane Properties. *Seed Sci. Res.* 10: 329-339.
- Cruz, L. B. 2001. Fertilización y Manejo de Cosecha en la Producción de Fruto y Semilla de Tomate de Cáscara. Tesis de Maestro en Ciencias. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad Especialidad en Genética. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 138 p.
- Cruz, G. R. A. 1991. Producción y Manejo Post-madurez de Fruto en Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Tesis de Maestría. Centro de Genética. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 155 p.
- De La Torre, A. R.; R Valverde J.; Méndez L.; J. T. Ascencio I. y R. F. Rivera B. 2002. Caracterización Preliminar de Geminivirus en Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* B.) en la Región Centro de México. *Agroc.* 36(4): 471-481.
- De la Torre, A. R. 1996. Caracterización Biológica y Molecular de un Complejo Viral en Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en los Valles Altos de México. Tesis de Doctor en Ciencias. Fitopatología. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 93 p.
- Fauquet, C. M.; M. A. Mayo.; J Maniloff.; U Desselberger. and L. A. Ball. 2005. Virus Taxonomy. Eight Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Virology Division International Union of Microbiological Societies. Elsevier Academic Press, San Diego California, United States of America. 1162 p.



- Garzón, T. J. A. y A. R. Garay. 1977. Los Cultivos de Tomate de Cáscara y Calabacita en el Estado de Hidalgo. SARH. INIA. CIANAMEC. No. 58, 8 p.
- George, A. T. R. 1983. Guía Para la Tecnología de las Semillas Hortícolas. FAO. Roma, Italia. 94 p.
- Gillaspie, A. G.; M. R. Hajimorad. and S. A. Ghabrial. 1998. Characterization of a Severe Strain of Cucumber mosaic cucumovirus Seedborne in Cowpea. Plant Dis. 82: 419-422.
- Güemes, G. M. J. 1999. Producción de Semilla de Tomate de Cáscara Variedad Rendidora en el Estado de Morelos. *In: 500 Tecnologías Llave en Mano. División Agrícola Tomo II Ed. SAGAR. INIFAP. Pp. 102-103.*
- Hampton, J. G. 2002. What is Seed Quality. Seed Sci. and Technol. 30: 1-10.
- Hartmann, T. H. y D. E. Kester. 1994. Propagación de Plantas: Principios y Prácticas. Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V., México, 760 p.
- Hernández, M. J. y Hernández, T. 1995. Tratamientos Para Romper Latencia en Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) Material Tamazula. Tesis profesional. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp 15-20.
- Hull, R. 2002. Matthew's Plant Virology. Academic Press Inc, London UK. 1001 p.
- INIFAP. 2004. El Amarillamiento en el Cultivo de Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) y Medidas Para su Manejo. Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Centro. Campo Experimental Zacatepec, Morelos. 23 p.
- Jiménez, G. R.; R. Domínguez R. y A. Peña L. 1992. Plagas Insectiles del Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en Chapingo, México. Rev. Chapingo. 16(77): 75-79.
- Johansen, E.; M. C. Edwards. and R. O. Hampton. 1994. Seed Transmission of Viruses: Current Perspectives. Ann. Rev. Phytopathol. 32: 363-386.
- Jorn, N. S. 1999. Nitrogen Effect on Vegetable Crop Production and Chemical Composition. Acta Hort. 506: 41-48.
- Kado, C. I.; H. O. Agrawal. 1972. Principles and Techniques in Plant Virology. Litton Educational Publishing, Inc. United States of America. 688 p.

- Kermode, A. R. 1995. Regulatory Mechanisms Involved in Transition from Seed Development to Germination: Between the Embryo and the Seed Environment. *In* Kigel J, Galili G (Eds.) Seed Development and Germination. Dekker. Nueva York, United States of America. pp. 273-332.
- Koster K. L.; M. S. Webb.; G. Bryant and D. V. Lynch. 1994. Interactions Between Soluble Sugars and POPC (1-palmitoyl-2-oleylphosphatidylcholine) During Dehydration: Vitrification of Sugars Alters the Phase Behavior of the Phospholipid. *Bioch. Biophys. Acta* 1193: 143-150.
- Lazcano, F. I. 2000. Nuevos Criterios en la Recomendación de Fertilizantes en Sistemas de Alta Productividad Agrícola en México. *Rev. TecnoAgro*. pp 5-8.
- Martínez, S. J.; A. Peña L. y D. Montalvo H. 2004. Producción y Tecnología de Semilla de Tomate de Cáscara. Universidad Autónoma Chapingo, México. 36 p.
- Mendoza, Z. C. 1996. Enfermedades Fungosas de Hortalizas. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Parasitología. Chapingo, Estado de México. Pp. 65-80.
- Menzel, Y. M. 1951. The Cytotaxonomy and Genetics of *Physalis*. The Blandy Experimental Farm, Univ. of Virginia. *Proc. Amer. Phil. Soc.* 95: 132-183.
- Osuna, H. M.; A. Peña L.; R. A. Cruz G. and L. M. Serrano C. 1992. Manejo Poscosecha de Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) para Producción de Semilla. *Rev. Chapingo*. 78: 82-85.
- Pandey, R. R. 1957. Genetics of Self Incompatibility in *Physalis ixocarpa* Brot. A new System. *Amer. J. Bot.* 44: 879-887.
- Peña L., A. y Márquez S. F. 1990. Mejoramiento Genético del Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa*, Brot.). *Rev. Chapingo* 71-72: 84-88.
- Peña, L. A.; J. F. Santiaguillo H.; D. Montalvo H. y M. Pérez G. 1997. Intervalos de Cosecha en la Variedad CHF<sub>1</sub>-Chapingo de Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Rev. Chapingo. Serie Hort.* 3(3): 31-38.
- Peña, M. R. y R. Bujanos M. 1992. Especies de Áfidos (Homoptera: Aphididae) que Dañan Hortalizas, pp. 41-71. *In*: Anaya R., S., N. Bautista M. y B. Domínguez

- R. (Eds.) Manejo Fitosanitario de las Hortalizas en México. Centro de Entomología y Acarología. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.
- Pérez, C. I.; V. A. González H.; J. C. Molina M.; O. J. Ayala G y A. Peña L. 2008. Efecto de Desarrollo y Secado de Semillas de *Physalis ixocarpa* Brot., en Germinación, Vigor y Contenido de Azúcares. Interc. 33(10): 762-766.
- Pérez, G. M.; Márquez S. y A. Peña L. 1998. Mejoramiento Genético de Hortalizas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 380 p.
- Piña, A. J. y F. Ponce G. 1990. Etiología y Control del Carbón del Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en Luvianos y Villa Guerrero, México. Rev. Chapingo. 67/68: 22-25.
- PRODUCE. 2005. Memoria: Jornada de Tecnología de Producción de Tomatillo. Fundación PRODUCE, Sinaloa A. C. Culiacán, Sinaloa, México. 72 p.
- Ramírez, C. R. N. 2007. Diagnóstico Fitosanitario del Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en el Altiplano Poblano. Tesis de Maestría. Postgrado de Fitosanidad, Entomología y Acarología. Montecillo, Texcoco, México. 41 p.
- Romero, B. V. 2000. Fertilización y Fechas de Trasplante en Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Tesis de Maestría, Programa de Horticultura. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México. 80 p.
- Santiaguillo, H. J. F. y R. López M. 1992. Colecta, Conservación y Evaluación de Germoplasma de Tomate de Cáscara (*Physalis* spp) en México. Tesis Profesional. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México. 107 p.
- Saray, M. C. R. y J. L. Loya. 1977. El Cultivo del Tomate de Cáscara en el Estado de Morelos. SARH, INIA, CIAMEC, CAEZACA. México. pp 3-11.
- Saray, M. C. R. y J. Loya R. 1978. El Cultivo de Tomate de Cáscara en el Estado de Morelos. El Campo. 54 (1040): 30-40.
- Saray, M., C. R. 1982. Importancia de la Precosecha (calentamiento) en el Rendimiento del Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 101 p.
- Tamayo, P. E. 1998. Determinación del Intervalo Óptimo de Cosecha en Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) Tipo Milpero. Tesis Profesional.

- Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 53 p.
- Tun, S. J. M. 2006. Transmisión por Semilla y Respuesta del Chile Habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) al *Alfalfa mosaic virus* (AMV). Tesis de Doctor en Ciencias. Fitopatología. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 62 p.
- Valadéz, L. A. 1996. Producción de Hortalizas. UTEHA, Noriega Editores, México, D. F. 298 p.
- Vásquez, R. F. 1979. Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 35 p.
- Vavilov, N. I. 1951. The Origin, Variation, Immunity and Breeding of Cultivated Plants. Trans. from the Russian by K. S. Chester, Ronald, Press, Co. New York. 357 p.
- Velásquez, D. S. 1993. Densidades de Población en Variedades de Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Tesis Profesional. Depto. Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México. pp. 9-18.
- Villegas, O. G. 1995. Beneficio de Semilla de Tomate (*Physalis ixocarpa* Brot.) y su Relación con la Calidad Física y Fisiológica. Tesis Profesional. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 74 p.
- Zadjali, A. D.; A. R. Matrooshi. and S. M. Moghal. 2002. Occurrence, Distribution and Properties of *Alfalfa mosaic virus*. Agric. Sci. 71: 47-51.

## CAPÍTULO 2

### PRESENCIA DE VIRUS EN SEMILLA DE PLANTAS ASINTOMÁTICAS DE TOMATE DE CÁSCARA (*Physalis ixocarpa* Brot.)

#### RESUMEN

El presente trabajo se realizó con tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) variedad CHF<sub>1</sub>-Chapingo, en un invernadero libre de áfidos, con los objetivos de identificar los virus transmitidos por semilla, así como conocer el porcentaje de semillas infectadas de plantas asintomáticas mediante el ensayo serológico ligado a enzimas en doble sándwich (DAS-ELISA). Los resultados obtenidos indican la presencia en mezcla de los virus *Alfalfa mosaic alfamovirus* (virus mosaico de la alfalfa, AMV), *Cucumber mosaic cucumovirus* (virus mosaico del pepino, CMV) y *Tobacco etch potyvirus* (virus jaspeado del tabaco, TEV) en muestras tomadas de plantas con síntomas de virosis, así como en semilla de plantas asintomáticas. Se reporta por primera vez la transmisión del TEV por semilla en tomate de cáscara.

**Palabras clave:** *Tobacco etch virus*, semilla

## ABSTRACT

This study was conducted in the Experimental Station of the Universidad Autónoma Chapingo, México in husk tomato (*Physalis ixocarpa* Brot.) variety CHF<sub>1</sub>-Chapingo grown in an insect-free greenhouse. The purpose of this research was to determine if viruses were transmitted by seeds and to know the transmission rate occurring through seed of asymptomatic plants. The detection of viruses was carried out with double sandwich enzyme-linked immunoadsorbent assay (DAS-ELISA) serological test.

The serological analyses indicated presence of mixed infections with the virus *Alfalfa mosaic alfamovirus*, *Cucumber mosaic cucumovirus* and *Tobacco etch potyvirus*, in plants with symptoms of viruses and in seeds obtained from asymptomatic plants. The transmission of TEV is reported for the first time by seed in husk tomato.

**Key words:** *Tobacco Etch Virus*, husk tomato seed.

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades causadas por virus provocan fuertes pérdidas económicas para la producción en diferentes cultivos en México, principalmente hortalizas (Pérez *et al.*, 2004). En los Estados de México, Morelos y Puebla es común observar plantas de *Physalis ixocarpa* con síntomas de proliferación de hojas, mosaico, moteado amarillo, cálico, enanismo y marchitez de hojas y tallos, presentes a lo largo del ciclo del cultivo; algunos de ellos con incidencias de 60 a 100 % y pérdidas en el rendimiento de frutos del 30 al 100 % (De la Torre *et al.*, 2002). Estos síntomas se han asociado a la presencia de virus con genoma ARN, entre los cuales están el *Cucumber mosaic cucumovirus*, CMV (virus mosaico del pepino), *Tobacco mosaic tobamovirus*, TMV (virus mosaico del tabaco), *Tobacco etch potyvirus*, TEV (virus jaspeado del tabaco), *Tobacco ringspot nepovirus*, TRSV (virus mancha anular del tabaco) y *Tomato spotted wilt tospovirus*, TSWV (virus marchitez manchada del tomate); encontrando con mayor frecuencia al TEV (De la Torre *et al.*, 2002).

También se ha detectado al *Alfalfa mosaic alfamovirus*, AMV (virus mosaico de la alfalfa) con gran frecuencia y severidad (De la Torre *et al.*, 2003). De los virus mencionados sólo hay reportes de transmisión por semilla para AMV de 1 a 50 % en los cultivos de alfalfa (*Medicago sativa*) y chile (*Capsicum annuum*), así como en *Datura stramonium*, *Solanum nigrum* y *Chenopodium quinoa* (Zadjali *et al.*, 2002); además del CMV en el cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) con un 49 % y en frijol de caupí (*Vigna unguiculata*) con 37 % (Gillaspie *et al.*, 1998), los cuales también se transmiten por áfidos de manera no persistente (Hull, 2002).

El AMV es transmitido, entre otras especies, por *Acyrtosiphon pisum*, *A. solani*, *Aphis solani*, *A. fabae*, *Myzus persicae*, *M. ligustri* y *Phorodon cannabis* (Zadjali *et al.*, 2002), mientras el CMV lo transmite *Aphis gossypii* con un 100 % de eficacia en calabacita (De la Torre *et al.*, 1998), así como por *Myzus persicae* en chile (Daniels y Campbell, 1992).

Generalmente los virus transmitidos por semilla inducen síntomas poco severos en sus hospedantes; sin embargo, es posible encontrar síntomas muy evidentes en algunas especies (Johansen *et al.*, 1994).

La transmisión de virus por semilla contribuye a la diseminación y perpetuación de virus. Genera consecuencias económicas importantes (Johansen *et al.*, 1994), como son pérdidas en la producción de hasta 100 % en tomate de cáscara, por lo cual productores han dejado de sembrar este cultivo (INIFAP, 2004). Por otro lado, la selección de plantas para producir semilla de tomate de cáscara es visual (Martínez *et al.*, 2004; INIFAP, 2004), por lo que no se garantiza su sanidad, debido a que hay plantas infectadas por virus que son asintomáticas. En el presente trabajo se establecieron experimentos para determinar mediante la técnica DAS-ELISA los virus transmitidos por semilla, así como determinar incidencia de semillas infectadas de plantas asintomáticas de tomate de cáscara.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Esta investigación se desarrolló en invernaderos de la Academia de Genética del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, a una altitud de 2249 msnm en las coordenadas 19° 29' de latitud norte y 98° 53' longitud oeste.

### **Obtención de progenitores**

Se estableció, en sustrato de tezontle con hidroponía una plantación de tomate empleando el material registrado como CHF<sub>1</sub>-Chapingo, en hileras de plantas de 10 m de longitud con distancia de un metro entre ellas, colocando una planta cada 35 cm, para un total de 28 por hilera. Se realizaron de forma alternada aplicaciones semanales de los insecticidas, Metasystox® r-25 ( 5 ml•l<sup>-1</sup> de agua), Malathion® 50E (5 ml•l<sup>-1</sup> de agua), Thiodan® 35 CE (5 ml•l<sup>-1</sup> de agua) y los fungicidas Bravo® 720 (5 ml•l<sup>-1</sup> de agua), Captan® (2.5 gr•l<sup>-1</sup> de agua) y Sulfocop® ( 5 ml•l<sup>-1</sup> de agua) para el combate de plagas y prevención de enfermedades; además se colocaron 20 trampas cilíndricas de



color amarillo intenso distribuidas al principio, a la mitad y al final de las hileras mismas que se cambiaron cada 20 d para monitoreo e identificación de áfidos con microscopio y clave dicotómica (Urias *et al.*, 1992), ya que son vectores de los virus en estudio. En esta etapa la polinización fue entomófila, favorecida por una colmena de abejas (*Apis mellifera*) situada a un costado del invernadero, para la fecundación y formación de frutos. De estos se obtuvo la semilla inicial o progenitores 70 d después del trasplante, cuando tomaron una coloración amarilla y fueron macerados en una máquina extractora de semilla de la Universidad Autónoma Chapingo, posteriormente se dejó secar a la sombra y se mantuvo almacenada a 4 °C para conservar su calidad y ser empleada como progenitor en esta investigación.

### **Producción de semilla (primer ciclo)**

Con la semilla obtenida (progenitores) se estableció una siembra en seis charolas de poliestireno de 200 cavidades, provistas de peat-moss (Sun-Gro ®) como sustrato, de la que se obtuvieron 1200 plántulas. Las charolas permanecieron, desde el momento de la siembra y hasta el posterior trasplante, protegidas en pequeñas jaulas de 1.20 m \* 0.70 m \* 0.50 m, construidas con alambazón y cubiertas con tela de organza para evitar el acceso de cualquier insecto vector de virus. El trasplante se realizó utilizando las plántulas más desarrolladas y sin síntomas de infección viral a los 22 d después de la siembra (Peña *et al.*, 1991). Para lo cual se había diseñado e instalado previamente una jaula grande de 25 m \* 8 m \* 3 m empleando tela tricot, donde se confinaron las plantas para mantenerlas libres de insectos vectores, mismas que fueron fertilizadas mediante hidroponía.

Adicionalmente se emplearon 20 trampas cilíndricas de color amarillo intenso, colocadas en la periferia interna de la jaula y entre cada hilera de plantas para detectar la posible entrada de insectos. Las trampas fueron revisadas diariamente y se reemplazaron cada 15 d para mantener su adherencia y visualización adecuada del color. Además, cada semana se realizaron deshierbes manuales para evitar

transmisión mecánica de virus. Todo ello con la finalidad de producir semilla y conocer la presencia o ausencia de virus, así como el porcentaje de transmisión.

### **Prueba de detección de virus en plántulas con síntomas (primer ciclo)**

Las plántulas que tenían 10 d de haber emergido y que mostraron síntomas de virosis como amarillamiento, moteados, rugosidades y distorsión foliar se analizaron con la técnica de inmunoabsorción enzimática en fase sólida en doble sándwich (DAS-ELISA), (Clark y Adams, 1977) para la detección de los virus CMV, AMV y TEV debido a que existen antecedentes de su mayor frecuencia en los estados de México, Morelos y Puebla (De la Torre *et al.*, 2002), aún cuando no hay reportes de su transmisión por semilla.

### **Prueba de detección de virus en plantas con síntomas (primer ciclo)**

Se tomaron muestras de las plantas 22 d después del trasplante y que mostraron síntomas de virosis como amarillamiento, moteados, rugosidades y distorsión foliar. Se analizaron con la técnica de inmunoabsorción enzimática en fase sólida en doble sándwich (DAS-ELISA), (Clark y Adams, 1977) para la detección de los virus CMV, AMV y TEV.

### **Producción de semilla (segundo ciclo)**

Debido a que se tuvieron plántulas y plantas con síntomas de virosis en el primer ciclo, se estableció un nuevo ciclo de producción, en el cual de nueva cuenta se sembraron semillas en seis charolas de poliestireno colocadas dentro de las jaulas pequeñas con las que se obtuvieron 1200 plántulas.

## **Aislamiento de plantas asintomáticas para producción de semilla**

De las plántulas producidas en el segundo ciclo, se seleccionaron 40 sin síntomas de infección viral y se trasplantaron 40 d después de la emergencia, con el propósito de producir semilla y determinar el porcentaje de transmisión de virus por esta vía en plantas asintomáticas. El trasplante se realizó utilizando las plántulas más desarrolladas, mismas que se trasplantaron en la jaula grande de 25 m \* 8 m \* 3 m, donde se confinaron para mantenerlas libres de insectos vectores, mismas que fueron fertilizadas mediante el sistema de hidroponía; adicionalmente se emplearon 20 trampas cilíndricas de color amarillo intenso, colocadas en la periferia interna de la jaula y entre cada hilera de plantas para detectar la posible entrada de insectos. Las trampas fueron revisadas diariamente y se reemplazaron cada 15 d para mantener su adherencia y visualización adecuada del color. Asimismo se realizaron deshierbes manuales cada semana para evitar transmisión mecánica de virus.

Además se hicieron aspersiones de imidacloprid (Confidor® 350 SC) a dosis de 0.5 ml·l<sup>-1</sup> de agua y oxidemeton metil (Metasystox® r-25) a dosis de 5 ml·l<sup>-1</sup> de agua cada 15 d sobre toda la superficie interna y externa de la jaula, para garantizar la ausencia de insectos vectores durante todo el ciclo de producción y de esta forma lograr producir semilla y determinar el porcentaje de transmisión de virus.

## **Polinización (segundo ciclo)**

Dado que en el tomate de cáscara no hay autofecundación, pues presenta autoincompatibilidad gametofítica (Pandey, 1957), la polinización se logra por el viento y por insectos, como especies de la familia *Apidae*, dentro de las que destaca *Apis mellifera* L. Sin embargo, debido a que en estos experimentos no se permitió la presencia de insecto alguno, se realizó la polinización manual, para lo cual en la etapa de floración se recolectó polen de las anteras de todas las plantas y se agregó a los estigmas, lográndose la fecundación y posterior desarrollo del fruto y semilla.

## **Prueba de detección de virus en plantas asintomáticas**

Se tomaron muestras de las 40 plantas 22 d del trasplante y se analizaron con la técnica de inmunoabsorción enzimática en fase sólida en doble sándwich (DAS-ELISA), (Clark y Adams, 1977) para la detección de los virus CMV, AMV y TEV.

## **Prueba de detección de virus en semilla**

Se determinó el porcentaje de virus por semilla, misma que fue obtenida de diferentes fuentes: progenitores (invernadero); de plantas asintomáticas (segundo ciclo de producción en invernadero) y testigo (producida a campo abierto en el programa de mejoramiento genético de la Universidad Autónoma Chapingo). Con las semillas se conformaron 40 muestras de 10 semillas cada una, conformando un total de 400, necesarias para una prueba de sanidad (ISTA, 2004).

Cada grupo de 10 semillas fue macerado en forma individual en 2 ml de amortiguador de extracción, para la detección de los virus CMV, AMV y TEV con la prueba de ELISA para fosfatasa alcalina, siguiendo el protocolo de Clark y Adams (1977). Los valores de absorbancia de cada muestra se registraron en un fotocolorímetro automático “Dynatech Minireader” (Dynatech Laboratorios Inc, Alexandria, VA), a una longitud de onda de 405 nm. La reacción se consideró positiva cuando la lectura fue mayor al valor promedio de los controles negativos más tres veces su desviación estándar (Umbral) (Sutula *et al.*, 1986).

## **Tratamientos y diseño experimental**

En el laboratorio de virología del Colegio de Postgraduados se realizó la prueba de detección de virus transmitidos por semilla empleando un diseño completamente al azar (Martínez, 1994) con cuatro repeticiones. Dicha prueba consistió en utilizar semilla producida a campo abierto en la Universidad Autónoma Chapingo (testigo), la obtenida como progenitores en invernadero, así como la proveniente de plantas asintomáticas

(segundo ciclo de producción). Con los datos derivados de las pruebas, se realizó un análisis de varianza mediante el Modelo Lineal General (GLM) y posterior comparación de medias de Tukey a un nivel de probabilidad de error  $\alpha = 0.05$ . Los datos fueron abalizados con la versión 9.0 del Statistical Analysis System (Rebolledo, 1998; SAS Institute, 2002)

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Obtención de progenitores.** De la plantación de *Physalis ixocarpa* en invernadero, se seleccionaron 20 plantas. De estas se cosecharon sus frutos al tomar una coloración amarilla y se extrajo la semilla (Martínez *et al.*, 2004), la cual se empleó como progenitor en esta investigación. El monitoreo e identificación de las especies de áfidos, desde el trasplante y final del ciclo de producción, indicaron la presencia de poblaciones de *Myzus persicae* y *Aphis gossypii*, aunque no se cuantificaron, además de otras especies de insectos como *Thrips* sp., *Trialeurodes vaporariorum*, *Bactericera cockerelli* y *Heliothis subflexa*.

### Primer ciclo de producción

**Detección de virus en plántulas con síntomas.** Al sembrar semilla de los progenitores, el 12 % de las plántulas generadas mostraron síntomas de virosis a partir de la emergencia, como pequeñas puntuaciones blanquecinas en los cotiledones, amarillamientos, moteados y deformaciones foliares, mismos que habían sido reportados en plantaciones comerciales de tomate de cáscara en los estados de México, Morelos, Puebla, Tlaxcala e Hidalgo (De La Torre *et al.*, 2003). Posteriormente se procedió a realizar la prueba de ELISA para la detección de virus en plántulas, encontrando en mezcla CMV, AMV y TEV. Considerando que estas plántulas se desarrollaron en condiciones de total aislamiento, libres de insectos vectores de virus, particularmente de áfidos que son vectores muy eficientes de los tres virus antes anotados (Hull, 2002; Zadjali *et al.*, 2002; De La Torre *et al.*, 1998), una posible

explicación a la potencial aparición de virosis en plántulas, sería que estos habrían sido transmitidos por semilla.

**Detección de los virus en plantas con síntomas.** Después de 22 d del trasplante los síntomas se agudizaron en el 97 % de las plantas, causando severa distorsión foliar, hojas filiformes, amarillamiento, clorosis, escasa floración, detención del crecimiento y rugosidad foliar (Figura 1). En esta etapa, la detección de virus mediante la prueba de ELISA, indicó la presencia de los virus *Cucumber mosaic cucumovirus* (mosaico del pepino, CMV), *Alfalfa mosaic alfamovirus* (mosaico de la alfalfa, AMV) y *Tobacco etch potyvirus* (virus jaspeado del tabaco, TEV). Considerando que las plantas estuvieron confinadas durante todo su desarrollo, sin la presencia de insectos existe la posibilidad de que estos virus se hayan transmitido por semilla.



Figura 1. Síntomas observados en plantas de *Physalis ixocarpa* procedentes de semillas obtenidas de plantas libres de insectos: A) Amarillamiento foliar y achaparramiento; B) Severa deformación y clorosis foliar; C) Rugosidad foliar y clorosis de nervaduras D) Proliferación de hojas filiformes y clorosis foliar.

Los síntomas coinciden con los observados por De La Torre *et al.*, (1998) en plantaciones comerciales de tomate de cáscara en los Estados de México, Morelos y Puebla. Estos autores señalan que el CMV indujo hojas filiformes, AMV moteado, amarillamiento y deformación foliar, así como clorosis; mientras que plantas infectadas por TEV mostraron arrugamiento de hojas.

## Segundo ciclo de producción

**Aislamiento de plantas asintomáticas para producción de semilla.** Estas plantas no desarrollaron síntomas de infección viral a lo largo de todo el ciclo de producción, tampoco hubo disminución en su crecimiento, ni en producción; por el contrario, las plantas fueron muy vigorosas y productivas (Figura 2).

Esto difiere con lo reportado en plantaciones de tomate de cáscara establecidas en los estados de México, Puebla, Morelos, Tlaxcala e Hidalgo, en las cuales plantas infectadas con AMV, TEV y CMV mostraron moteado amarillo, deformación de hojas, amarillamiento, enanismo, marchitez de hojas y tallos (De La Torre *et al.*, 2003), así como pérdidas en el rendimiento de frutos del 30 a 100% (De La Torre *et al.*, 2002).



Figura 2. Producción de semilla en plantas asintomáticas de tomate de cáscara en invernadero.

## Prueba de detección de virus en plantas asintomáticas

De las 40 plantas asintomáticas analizadas, en el 55 % de ellas se detectó mezcla de los virus *Cucumber mosaic cucumovirus* (mosaico del pepino, CMV), *Alfalfa mosaic alfamovirus* (mosaico de la alfalfa, AMV) y *Tobacco etch potyvirus* (virus jaspeado del tabaco, TEV). La ausencia de síntomas en plantas infectadas por virus ocurre en diferentes especies vegetales. Scott (1982) estableció una plantación de trébol cultivar Sabtoron en invernadero libre de áfidos, posteriormente las inoculó con el *White clover mosaic virus* (WCMV), dos meses después tomó muestras de cada planta inoculada y realizó la correspondiente prueba de detección de virus, encontrándolo en todas ellas (100 %); sin embargo, el 80 % fueron asintomáticas.

**Prueba de detección de virus en semilla.** De acuerdo al análisis estadístico realizado se presentaron diferencias significativas en los porcentajes de transmisión de virus por semilla (Cuadro 1).

Cuadro 1. Cuadrados medios y significancia estadística en el porcentaje de transmisión de los virus *Alfalfa mosaic alfamovirus* (AMV), *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) y *Tobacco etch potyvirus* (TEV) en 40 muestras compuestas de 10 semillas/fuente.

FV	GL	Variables		
		AMV	CMV	TEV
Fuente de semilla (Cuadrados medios)	2	6001.33 **	4505.08 **	160.33 **
Error	9	2.00	1.19	1.16
Total	11			
F Calculada		3000.67	3771.70	137.43
Pr > F		< .0001	< .0001	< .0001
C.V.		2.02	1.71	7.28
R <sup>2</sup>		0.99	0.99	0.96

\*\* Altamente significativo al 0.05 %; FV = Fuentes de variación; GL = Grados de libertad; Pr > F = Probabilidad de F.



Los resultados obtenidos indicaron la presencia del CMV, AMV y TEV, encontrándose con mayor frecuencia al AMV (Cuadros 2, 3, 4 y 5). Dado que no existen reportes de la transmisión por semilla del TEV (Fauquet *et al.*, 2005; Hull, 2002), los resultados obtenidos en este trabajo son importantes ya que constituyen el primer reporte de la transmisión de este virus por semilla en tomate de cáscara.

Cuadro 2. Efecto promedio de las diferentes fuentes de semilla de tomate de cáscara sobre el porcentaje de transmisión de los virus *Alfalfa mosaic alfamovirus* (AMV), *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) y *Tobacco etch potyvirus* (TEV) en 40 muestras compuestas de 10 semillas/fuente.

Fuente de la Semilla	Porcentaje de transmisión de virus por semilla		
	AMV	CMV	TEV
Testigo (Producida a campo abierto)	94.00 a	86.00 a	22.00 a
Progenitores (Producida en invernadero)	90.00 b	79.75 b	12.50 b
Proveniente de plantas asintomáticas (Producida en invernadero)	25.00 c	25.00 c	10.00 c
DMS 0.05	2.79	2.15	2.13

Medias con la misma letra en sentido vertical son iguales estadísticamente (Tukey,  $\alpha = 0.05$ ); DMS = Diferencia mínima significativa

El virus detectado con mayor frecuencia en las semillas obtenidas del testigo, progenitores y de plantas asintomáticas fue el *Alfalfa mosaic alfamovirus* (AMV), seguido del *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) y *Tobacco etch potyvirus* (TEV). De manera general se detectó mayor porcentaje de transmisión de virus por semilla con diferencias significativas, en aquella producida a campo abierto mediante polinización libre, superando a la obtenida de los progenitores y de plantas asintomáticas (Figura 3).

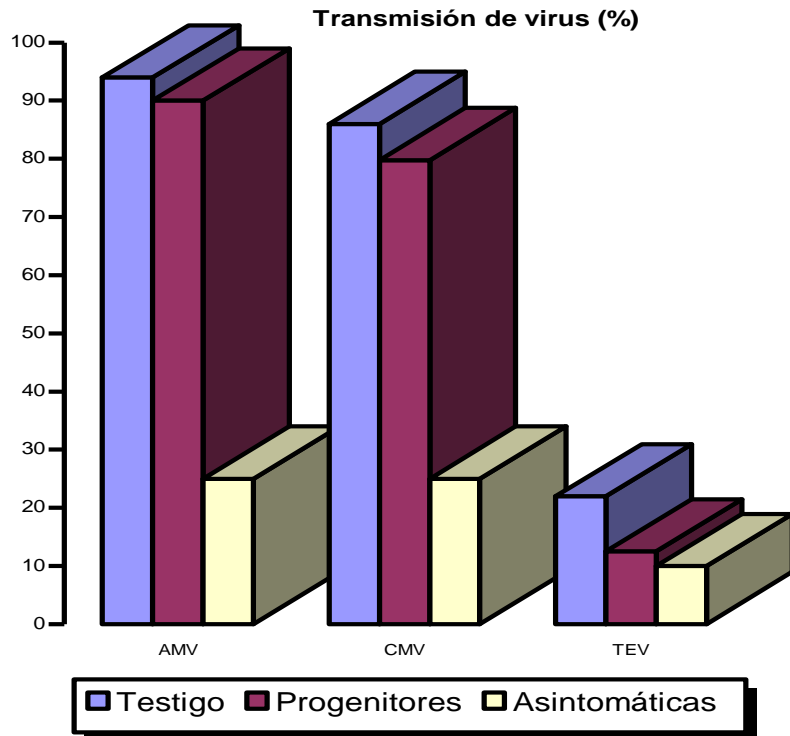


Figura 3. Incidencia de los virus presentes en la semilla de tomate de cáscara.

La incidencia de semillas infectadas con virus es un factor importante para su dispersión de una región a otra (Johansen *et al.*, 1994), ya que pueden permanecer activos de uno a cinco años (Kado y Agrawal, 1972), lo que es una estrategia perfecta para perpetuarse, incluso provocar pérdida total en la producción de tomate de cáscara (De la Torre *et al.*, 2002). Sobre todo, al considerar que los sistemas de producción de semilla en esta especie se basan en eliminar de los lotes sólo aquellas plantas que muestran síntomas de virosis (Martínez *et al.*, 2004), sin tomar en cuenta la existencia de plantas asintomáticas en alto porcentaje; de ahí que no se garantiza su sanidad, por el contrario se sigue contribuyendo a la dispersión de los virus CMV, AMV y TEV en forma incontrolada ciclo tras ciclo en las regiones productoras.

Cuadro 3. Valores de absorbancia obtenidos mediante la prueba de detección del virus TEV en semillas de plantas asintomáticas de tomate de cáscara.

<b>Número de muestra (entre paréntesis) y Valor de absorbancia</b>											
<b>B</b>	<b>B</b>	(6)	(6)	(14)	(14)	(22)	(22)	(30)	<b>*(30)</b>	(38)	(38)
<b>0.104</b>	<b>0.094</b>	0.109	0.102	0.104	0.104	0.113	0.129	0.108	<b>0.136</b>	0.117	0.114
<b>+</b>	<b>+</b>	(7)	(7)	(15)	(15)	(23)	(23)	(31)	(31)	(39)	<b>*(39)</b>
<b>0.232</b>	<b>0.235</b>	0.105	0.106	0.099	0.105	0.108	0.103	0.105	0.107	0.116	<b>0.180</b>
<b>-</b>	<b>-</b>	(8)	(8)	(16)	(16)	(24)	(24)	(32)	<b>*(32)</b>	(40)	(40)
<b>0.110</b>	<b>0.095</b>	0.113	0.090	0.105	0.100	0.114	0.103	0.112	<b>0.148</b>	0.127	0.106
(1)	(1)	(9)	(9)	(17)	(17)	(25)	(25)	(33)	(33)		
0.099	0.098	0.096	0.105	0.117	0.122	0.108	0.109	0.110	0.112		
(2)	(2)	(10)	(10)	(18)	(18)	(26)	(26)	(34)	(34)		
0.098	0.113	0.107	0.100	0.111	0.107	0.109	0.109	0.101	0.107		
(3)	(3)	(11)	(11)	(19)	(19)	<b>*(27)</b>	<b>*(27)</b>	(35)	(35)		
0.112	0.116	0.132	0.106	0.106	0.102	<b>0.500</b>	<b>0.135</b>	0.101	0.122		
(4)	(4)	(12)	(12)	(20)	(20)	(28)	(28)	(36)	(36)		
0.104	0.113	0.111	0.111	0.109	0.104	0.104	0.11	0.099	0.115		
(5)	(5)	(13)	(13)	(21)	(21)	(29)	(29)	(37)	(37)		
0.114	0.116	0.110	0.096	0.116	0.100	0.124	0.124	0.102	0.107		

**UMBRAL OBTENIDO DE LOS TESTIGOS NEGATIVOS= 0.1343**

Muestras positivas; **B**: Blanco; **+**: Testigo positivo; **-**: Testigo negativo.

\*Los valores de absorbancia superiores al umbral son considerados positivos a la presencia de virus.

Cuadro 4. Valores de absorbancia obtenidos mediante la prueba de detección del virus CMV en semillas de plantas asintomáticas de tomate de cáscara.

<b>Número de muestra (entre paréntesis) y Valor de absorbancia</b>											
<b>B</b>	<b>B</b>	(6)	(6)	<b>*(14)</b>	<b>*(14)</b>	<b>*(22)</b>	<b>*(22)</b>	(30)	(30)	(38)	(38)
<b>0.873</b>	<b>0.905</b>	0.910	0.915	<b>1.086</b>	<b>1.020</b>	<b>0.966</b>	<b>1.007</b>	0.931	0.940	0.950	0.941
<b>+</b>	<b>+</b>	(7)	(7)	(15)	(15)	(23)	(23)	(31)	(31)	<b>*(39)</b>	<b>*(39)</b>
<b>3.230</b>	<b>3.207</b>	0.930	0.935	0.930	0.947	0.870	0.877	0.872	0.875	<b>1.652</b>	<b>0.971</b>
<b>-</b>	<b>-</b>	(8)	(8)	<b>*(16)</b>	<b>*(16)</b>	(24)	(24)	<b>*(32)</b>	(32)	(40)	(40)
<b>0.797</b>	<b>0.858</b>	0.938	0.932	<b>1.323</b>	<b>1.102</b>	0.797	0.723	<b>1.128</b>	0.857	0.714	0.781
(1)	(1)	(9)	(9)	(17)	(17)	(25)	(25)	(33)	(33)		
0.850	0.860	0.940	0.945	0.830	0.811	0.848	0.796	0.850	0.905		
(2)	(2)	(10)	(10)	(18)	(18)	<b>*(26)</b>	<b>*(26)</b>	(34)	(34)		
0.940	0.936	0.930	0.924	0.924	0.836	<b>1.036</b>	<b>0.995</b>	0.885	0.790		
(3)	(3)	(11)	(11)	(19)	(19)	(27)	(27)	(35)	(35)		
0.865	0.870	1.153	1.087	0.860	0.870	0.842	0.787	0.831	0.925		
(4)	(4)	<b>*(12)</b>	<b>*(12)</b>	(20)	(20)	(28)	(28)	(36)	(36)		
0.845	0.865	<b>1.158</b>	<b>1.034</b>	0.870	0.865	0.893	0.880	0.921	0.951		
(5)	(5)	(13)	(13)	<b>*(21)</b>	<b>*(21)</b>	<b>*(29)</b>	<b>*(29)</b>	<b>*(37)</b>	(37)		
0.880	0.885	0.890	0.895	<b>1.131</b>	<b>1.073</b>	<b>0.971</b>	<b>1.027</b>	<b>1.095</b>	0.580		

**UMBRAL OBTENIDO DE LOS TESTIGOS NEGATIVOS = 0.957**

Muestras positivas; **B**: Blanco; **+**: Testigo positivo; **-**: Testigo negativo.

\*Los valores de absorbancia superiores al umbral son considerados positivos a la presencia de virus.

Cuadro 5. Valores de absorbancia obtenidos mediante la prueba de detección del virus AMV en semillas de plantas asintomáticas de tomate de cáscara.

<b>Número de muestra (entre paréntesis) y Valor de absorbancia</b>											
<b>B</b>	<b>B</b>	(6)	(6)	(14)	(14)	(22)	(22)	<b>*(30)</b>	<b>*(30)</b>	(38)	(38)
<b>0.172</b>	<b>0.178</b>	0.158	0.165	0.194	0.156	0.159	0.165	<b>0.258</b>	<b>0.298</b>	0.167	0.188
<b>+</b>	<b>+</b>	(7)	(7)	(15)	(15)	<b>*(23)</b>	<b>*(23)</b>	(31)	(31)	(39)	(39)
<b>0.700</b>	<b>0.790</b>	0.140	0.154	0.186	0.149	<b>0.224</b>	<b>0.300</b>	0.179	0.182	0.171	0.179
<b>-</b>	<b>-</b>	(8)	(8)	(16)	(16)	<b>*(24)</b>	(24)	(32)	(32)	(40)	(40)
<b>0.160</b>	<b>0.137</b>	0.148	0.159	0.188	0.156	0.395	0.188	0.170	0.175	0.174	0.183
(1)	(1)	(9)	(9)	(17)	(17)	(25)	(25)	(33)	(33)		
0.151	0.160	0.148	0.157	0.185	0.177	0.272	0.167	0.179	0.184		
(2)	(2)	(10)	(10)	(18)	(18)	<b>*(26)</b>	<b>*(26)</b>	<b>*(34)</b>	<b>*(34)</b>		
0.152	0.142	0.162	0.169	0.189	0.180	<b>0.220</b>	<b>0.206</b>	<b>0.251</b>	<b>0.398</b>		
(3)	(3)	(11)	(11)	(19)	(19)	<b>*(27)</b>	<b>*(27)</b>	(35)	(35)		
0.148	0.151	0.185	0.164	0.177	0.188	<b>0.252</b>	<b>0.210</b>	0.169	0.171		
(4)	(4)	(12)	(12)	<b>*(20)</b>	<b>*(20)</b>	(28)	(28)	<b>*(36)</b>	<b>*(36)</b>		
0.157	0.162	0.172	0.180	<b>0.203</b>	<b>0.211</b>	0.195	0.195	<b>0.267</b>	<b>0.284</b>		
(5)	(5)	(13)	(13)	<b>*(21)</b>	<b>*(21)</b>	<b>*(29)</b>	<b>*(29)</b>	<b>*(37)</b>	<b>*(37)</b>		
0.167	0.173	0.188	0.190	<b>0.360</b>	<b>0.225</b>	<b>0.379</b>	<b>0.261</b>	<b>0.268</b>	<b>0.348</b>		

**UMBRAL OBTENIDO DE LOS TESTIGOS NEGATIVOS = 0.197**

Muestras positivas; **B**: Blanco; **+**: Testigo positivo; **-**: Testigo negativo.\*Los valores de absorbancia superiores al umbral son considerados positivos a la presencia de virus

**CONCLUSIONES**

1. En el primer ciclo de producción, el 97 % de las plantas que no mostraron síntomas de virosis fueron asintomáticas, ya que se detectó la presencia en mezcla de los virus *Alfalfa mosaic alfamovirus*, *Cucumber mosaic cucumovirus* y *Tobacco etch potyvirus*.
2. En el segundo ciclo de producción, el 56 % de las plantas fueron asintomáticas y de nuevo se detectó la presencia en mezcla de los virus *Alfalfa mosaic alfamovirus*, *Cucumber mosaic cucumovirus* y *Tobacco etch potyvirus*
3. Se detectó la presencia de *Alfalfa mosaic alfamovirus*, *Cucumber mosaic cucumovirus* y *Tobacco etch potyvirus* en plantas de tomate de cáscara con síntomas de rugosidad foliar, mosaico, amarillamiento, clorosis y deformación foliar.

4. En semilla de plantas con síntomas y asintomáticas se detectó la presencia de los virus *Alfalfa mosaic alfamovirus*, *Cucumber mosaic cucumovirus* y *Tobacco etch potyvirus*.
5. De los virus transmitidos por semilla, se encontró con mayor frecuencia el *Alfalfa mosaic alfamovirus* (virus mosaico de la alfalfa, AMV)

## LITERATURA CITADA

- Clark, M. F. and A. M. Adams. 1977. Characteristics of Microplate Method of Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Detection of Plant Viruses. Jour. of Gen. Virol. 34: 475-483.
- Daniels, J. and R. N. Campbell. 1992. Characterization of Cucumber mosaic virus Isolates from California. Plant Dis. 76: 268-271.
- De la Torre, A. R.; D. Téliz O.; B. Barrón R.; E. Cárdenas S. y E. García L. M. 1998. Identificación de un Complejo Viral en Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* B.) en la Región Centro de México. Rev. Mex. Fitopatol. 16 (1): 1-11.
- De La Torre, A. R.; R. Valverde.; J. Méndez L.; J. T. Ascencio I. y R. F. Rivera. B. 2002. Caracterización Preliminar de Geminivirus en Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* B.) en la Región Centro de México. Agroc. 36(4): 471-481.
- De la Torre, A. R.; M. Salazar S. y R. Valverde. 2003. Etiología del Moteado Amarillo del Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en México. Agroc. 37: 277-289.
- Fauquet, C. M.; M. A. Mayo.; J. Maniloff.; U. Desselberger. and L. A. Ball. 2005. Virus Taxonomy. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Virology Division International Union of Microbiological Societies. Elsevier Academic Press, San Diego California, United States of America. 1162 p.
- Gillaspie, A. G.; M. R. Hajimorad. and S. A. Ghabrial. 1998. Characterization of a Severe Strain of Cucumber mosaic cucumovirus Seed borne in Cowpea. Plant Dis. 82: 419-422.
- Hull, R. 2002. Matthew's Plant Virology. Academic Press Inc, London UK. 1001 p.
- INIFAP. 2004. El Amarillamiento en el Cultivo de Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) y Medidas y Para su Manejo. Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Centro. Campo Experimental Zacatepec, Morelos. 23 p.
- ISTA. 2004. International Rules for Seed Testing. The International Seed Testing Association. Bassersdorf, CH-Switzerland. 700 p.

- Johansen, E. M.; C. Edwards. and R. O. Hampton. 1994. Seed Transmission of Viruses: Current Perspectives. *Ann. Rev. Phytopathol.* 32: 363-386.
- Kado, C. I. and H. O. Agrawal. 1972. Principles and Techniques in Plant Virology. Litton Educational Publishing, Inc. United States of America. 688 p.
- Martínez, S. J.; A. Peña L. y D. Montalvo H. 2004. Producción y Tecnología de Semilla de Tomate de Cáscara. Universidad Autónoma Chapingo, México. 36 p.
- Pandey, K. K. 1957. Genetics of Self Incompatibility; *Physalis ixocarpa* Brot. A New System. *Amer. J. Bot.* 44: 879-887.
- Peña, L. A.; F. Ramírez P. y R. A. Cruz G. 1991. Edad al Trasplante de Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en Chapingo, México. *Rev. Chapingo* 73: 57-60.
- Pérez, M. L.; E. Rico J.; J. R. Sánchez P.; J. T. Ascencio I.; R. Díaz P. y R. F. Rivera B. 2004. Identificación de Virus Fitopatógenos en Cultivos Hortícolas de Importancia Económica en el Estado de Guanajuato, México. *Rev. Mex. de Fitopatol.* 22 (2): 187-197.
- Rebolledo, R. H. H. 1998. SAS en Microcomputadora: Análisis Estadístico de Datos Experimentales. Departamento de Suelos. Universidad Autónoma Chapingo. 148 p.
- SAS Institute. 2002. User's Guide of SAS (Statistical Analysis System). SAS Institute Inc. Cary, N.C. United States of America. 550 p.
- Scott, S. W. 1982. Tests for Resistance to White Clover mosaic virus in Red and White Clover. *Ann. Appl. Biol.* 100: 393-398.
- Sutula, C. L.; J. M. Gillett.; S. M. Morrissey, and D. C. Ramsdell. 1986. Interpreting ELISA Data and Establishing the Positive-Negative Threshold. *The Amer. Phytopathol. Soc.* 70(8): 722-726.
- Urias, C.M.; R. Rodríguez M. y T. Alejandro A. 1992. Áfidos como Vectores de Virus en México. Identificación de Áfidos de Importancia Agrícola. Centro de Fitopatología. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 163 p.
- Zadjali, A. D.; A. R. Matrooshi, and S. M. Moghal. 2002. Occurrence, Distribution and Properties of Alfalfa mosaic virus. *Agric. Sci.* 71: 47-51.

## CAPÍTULO 3

### OBTENCIÓN DE SEMILLA DE TOMATE DE CÁSCARA (*Physalis ixocarpa* Brot.) LIBRE DE VIRUS

#### RESUMEN

Este trabajo se realizó en el Campo Experimental del Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo y en un invernadero de la Universidad Autónoma Chapingo. Este último se mantuvo libre de áfidos sembrado con tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) variedad CHF<sub>1</sub>-Chapingo, para evaluar diferentes tratamientos en el manejo de insectos vectores de virus de esta hortaliza, para producir semilla con calidad física, fisiológica, genética y sanitaria libre de los virus *Alfalfa mosaic alfamovirus* (virus mosaico de la alfalfa, AMV), *Cucumber mosaic cucumovirus* (virus mosaico del pepino, CMV) y *Tobacco etch potyvirus* (virus jaspeado del tabaco, TEV). Los tratamientos aplicados fueron: 1. Combate convencional de plagas; 2. Manejo biorracional de plagas; 3. Manejo convencional de plagas más aplicaciones de miel al 2 %; 4. Obtención de semilla en invernadero libre de insectos y 5. Testigo, usando semilla producida en campo abierto con polinización libre y manejo convencional de plagas.

Los resultados obtenidos indican buena calidad genética, física y fisiológica en la semilla obtenida de los tratamientos 2 y 3; así como la presencia de los virus AMV, CMV y TEV en muestras de semilla obtenida de los tratamientos 1, 2, 3 y Testigo. Por otra parte, en el invernadero libre de insectos vectores, se logró obtener semilla con mayor calidad genética, física, fisiológica y sanitaria libre de estos virus.

**Palabras clave:** *Physalis ixocarpa*, calidad de semilla, AMV, CMV, TEV



## ABSTRACT

The experiment was conducted in an experimental plot at Colegio de Postgraduados and a greenhouse free of aphids at the Universidad Autonoma Chapingo with husk tomato (*Physalis ixocarpa* Brot.) Variety CHF1-Chapingo. Different treatments were evaluated to control physical, physiological, and genetic traits, as well as virus-free plants regarding *Alfalfa mosaic alfamovirus* (AMV), *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) and *Tobacco etch potyvirus* (TEV). The treatments were: 1. Conventional pest control, 2. Bio rational control 3. Conventional pest management with a 2 % honey spraying, 4. Seed production in an insect free greenhouse, and 5. Check.

The results indicate good genetic, physical and physiological quality of seed from treatments 2 and 3, and the presence of *Alfalfa mosaic alfamovirus* (AMV), *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) and *Tobacco etch potyvirus* (TEV) on seed samples from treatments 1, 2, 3 and Check. However, in the vector-free greenhouse, it was able to obtain better quality seed genetics, physical, physiological and virus-free plants.

Keywords: *Physalis ixocarpa*, seed quality, AMV, CMV, TEV

## INTRODUCCIÓN

En la década de los años 1970<sup>s</sup> se presentó la virosis “chino del tomate” en campos sembrados con esta hortaliza en campos del Estado de Morelos, Hernández y Sifuentes, (1974). Por su parte, De la Torre *et al.* (1995a, 1995b) detectaron un complejo viral en plantas de tomate de cáscara en la región Centro de México, conformado por varios virus identificados como virus *Cucumber mosaic cucumovirus* (virus mosaico del pepino, CMV), *Tobacco etch potyvirus* (virus jaspeado del tabaco, TEV), *Tobacco ringspot nepovirus* (mancha anular del tabaco, TRSV), *Tomato spotted wilt tospovirus* (virus marchitez manchada del tomate, TSWV), *Tobacco mosaic tobamovirus* (virus mosaico del tabaco, TMV), *Impatiens necrotic spot tospovirus* (mancha necrótica de los belenes, INSV) y dos geminivirus.

Los áfidos transmiten aproximadamente el 60 % de los virus fitopatógenos, según Harris (1977), la mayoría de forma no persistente; es decir, los insectos lo adquieren de plantas infectadas durante el período de prueba que realizan cuando se encuentran en busca de alimento y posteriormente llevado en sus partes bucales (estilete) sin existir período de latencia. La partícula viral es retenida por menos de una hora, tiempo en el cual ocurre la liberación de las partículas virales en plantas sanas (Hull, 2002).

De la Torre *et al.* (2002) en plantas de tomate de cáscara con síntomas de virus detectaron a CMV, TMV, TEV, TRSV y TSWV de forma individual y/o en mezcla. Posteriormente aislaron y caracterizaron un virus transmitido por *M. persicae* como una variante del AMV (De la Torre *et al.*, 2003). El CMV se ha reportado en solanáceas y es el representante tipo del género *Cucumovirus*, considerado como uno de los diez más importantes en el mundo. Este virus se transmite de forma no persistente por especies de áfidos, entre las cuales destacan *Aphis gossypii* y *Myzus persicae* (Edwarson y Christie, 1986).

El AMV es la especie tipo del género *Alfamovirus*, familia *Bromviridae*, transmitido de manera no persistente por áfidos, por semilla, mecánica y por plantas parásitas como

cuscuta. Infecta a más de 400 especies de plantas pertenecientes a 50 familias (Brunt *et al.*, 1990; Šutić *et al.*, 1999; Zadjali *et al.*, 2002). La transmisión por semilla del AMV está asociada principalmente a la infección del embrión ya que el virus presente en la testa y endospermo puede inactivarse durante el proceso de maduración, almacenamiento y deshidratación de la misma (Frosheiser, 1974; Hemmati y McLean, 1977; Pesic y Hiruki, 1986; Mink, 1993; Johansen *et al.*, 1994). El TEV fue reportado por primera vez en México en 1966 (Mora, 1977). Posteriormente fue consignado por Rodríguez en 1971 en el estado de Guanajuato, quien reportó huertos de chile 100 % afectados por este virus, mismo que se transmite de manera no persistente por áfidos a más de 150 especies de plantas de más de 20 familias (Edwarson y Christie, 1997).

Las enfermedades causadas por virus son muy difíciles de controlar y pueden resultar en pérdidas sustanciales del cultivo. Su incidencia y severidad varía entre estaciones de cultivo debido a la interacción compleja que existe entre el patógeno, la planta, el vector, la fuente de virus, y el ambiente (Jones y Baker, 1991).

El uso de insecticidas para el manejo de insectos vectores de virus fitopatógenos, es el método más empleado para el manejo de virosis. Se han empleado varios insecticidas, sin embargo esta estrategia no ha sido muy eficaz (Jones y Baker, 1991; Chellemi *et al.*, 1994). El manejo nutrimental a través de la fertilización es un control cultural importante en las enfermedades de las plantas. Los excesos o deficiencias minerales, reducen el crecimiento vegetativo y pueden disminuir la concentración de virus en los tejidos. (Huber, 1989; Fageria *et al.*, 1997). La nutrición equilibrada tiene una función importante en los cultivos al condicionar la resistencia o la susceptibilidad a patógenos, ya que los elementos minerales están directamente involucrados en los mecanismos de defensa de la planta, como compuestos integrales de células, substratos, enzimas y portadores de electrones o como inhibidores, activadores y reguladores del metabolismo (Graham, 1983). Villegas *et al.*, (2001) observaron disminución en la concentración del virus TSWV al aplicar miel en plantas de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.).

Para desarrollar métodos de control eficientes para el manejo de una enfermedad y en especial aquellas de origen viral, se requiere tener conocimientos de la biología de los virus (Hull, 2002). En los Estados de México, Morelos y Puebla se han observado plantas de *Physalis ixocarpa* con síntomas de virosis presentes a lo largo del ciclo del cultivo; algunos con incidencias del 60 al 100 % y pérdidas en el rendimiento de frutos del 30 al 100 % (De la Torre *et al.*, 2002). La transmisión de virus por semilla genera pérdidas en la producción de hasta el 100 % en tomate de cáscara, por lo cual varios productores han dejado de sembrar este cultivo (INIFAP, 2004). Debido a que en la actualidad no se cuenta con variedades de tomate de cáscara resistentes a virus es importante contar con semilla libre de estos patógenos. Sin embargo, el proceso de producción de semilla requiere de conocimientos especiales, como la oportunidad de cosecha (estado de madurez en que la semilla alcanza su máxima calidad), métodos de cosecha, procesamiento, almacenamiento y comercialización, para la toma acertada de decisiones en cada una de las etapas mencionadas (Pereira *et al.*, 2002). Semánticamente, la calidad es un atributo o propiedad que connota superioridad o excelencia (Delouche, 2002).

La semilla de alta calidad es una parte importante y costosa del componente tecnológico en la producción, por lo que su elección debe ser cuidadosa para garantizar la obtención del producto con la calidad requerida por el mercado, tanto nacional como de exportación (Morales, 2003). De ahí la necesidad de contar con semilla libre de virus; por lo cual, en el presente trabajo, se establecieron experimentos a campo abierto y en invernadero con el objetivo de producir semilla de tomate de cáscara con calidad genética, física, fisiológica y sanitaria libre de los virus AMV, CMV y TEV.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Esta investigación se desarrolló en los invernaderos de la Academia de Genética del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicado en el Campo Agrícola Experimental de esta Universidad a una altitud de 2249 msnm en las coordenadas 19° 29' de latitud norte y 98° 53' longitud oeste, así como en el Campo

Experimental del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, a una altitud de 2250 msnm en las coordenadas 19° 28' de latitud norte y 98° 54' longitud oeste.

### **Obtención de progenitores**

Se estableció una plantación de tomate de cáscara en hidroponía y tezontle como sustrato con el material registrado como CHF<sub>1</sub>-Chapingo, colocando una planta cada 35 cm en hileras de 10 m de longitud con distancia de un metro entre ellas. Se realizaron de forma alternada aplicaciones semanales de los insecticidas, Metasystox® r-25 ( 5 ml·l<sup>-1</sup> de agua), Malathion® 50E (5 ml·l<sup>-1</sup> de agua), Thiodan® 35 CE (5 ml·l<sup>-1</sup> de agua) y los fungicidas Bravo® 720 (5 ml·l<sup>-1</sup> de agua), Captan® (2.5 gr·l<sup>-1</sup> de agua) y Sulfocop® ( 5 ml·l<sup>-1</sup> de agua) para el combate de plagas y prevención de enfermedades; además se colocaron trampas cilíndricas de color amarillo intenso al inicio, a la mitad y final de las hileras para inspección e identificación de áfidos con microscopio y clave dicotómica (Urias *et al.*, 1992), mismas que se cambiaron cada 20 d. En esta etapa la polinización fue entomófila, propiciada por una colmena de abejas (*Apis mellifera*) situada a un costado del invernadero para la fecundación y formación de frutos.

De esta plantación inicial de *Physalis ixocarpa*, se seleccionaron visualmente las mejores 20 plantas; es decir, las de mayor vigor, producción y sin síntomas de virosis, cosechando sus frutos al tomar una coloración amarilla, de los que se extrajeron las semillas según lo indicado por Martínez *et al.*, 2004, que se almacenaron a 4 °C para conservar su calidad; ésta fue la que se empleó como progenitor en esta investigación.

### **Proceso de producción de semilla**

A fin de obtener semilla libre de virus, se establecieron dos plantaciones, una de las cuales se estableció en forma convencional; es decir, a campo abierto, en el Colegio de Postgraduados. La segunda plantación se estableció en los invernaderos de la Universidad Autónoma Chapingo con el sistema de hidroponía.

## Producción de plántulas

Para cada plantación se produjeron las plántulas de manera independiente; en el caso de aquellas destinadas a transplantarse en campo abierto, se sembraron las semillas en charolas para germinación; mientras que para la producción de las plántulas destinadas a transplantarse en invernadero, las semillas se sembraron en vasos de unicel.

**Producción de plántulas para campo abierto.** Con la semilla obtenida (progenitores) se estableció una siembra en diez charolas de poliestireno de 200 cavidades, provistas de peat-moss (Sun-Gro ®) como sustrato, obteniéndose 2000 plántulas. Estas charolas permanecieron, desde el momento de la siembra y hasta el posterior trasplante, protegidas en jaulas construidas con alambrcn cubiertas con tela de organza para evitar el acceso de cualquier insecto vector de virus (Figura 4).



Figura 4. Producción de plántulas de tomate de cáscara destinadas a ser trasplantadas a campo abierto

**Producción de plántulas para invernadero.** Dentro del invernadero se diseñó y colocó una jaula de 10 m de largo \* 6 m de ancho \* 3 m de alto (Figura 5) empleando tela tricot para evitar el acceso a insectos vectores de virus. Además de emplear 15 trampas cilíndricas de color amarillo intenso que se revisaron diariamente y se ubicaron en el interior de la jaula para detectar la posible entrada de éstos insectos.



Figura 5. Jaula anti-insectos diseñada y colocada dentro del invernadero para producir plántulas y semilla de tomate de cáscara

En el interior de esta jaula se colocaron 400 vasos de unicel del número 4, provistos con peat-moss (Sun-Gro ®) como sustrato (Figura 6). En cada vaso se sembró sólo una semilla, se mantuvieron a una distancia de 10 cm entre ellos para evitar el contacto entre las plántulas al emerger e iniciar su desarrollo y así impedir la transmisión mecánica de plántulas infectadas hacia plántulas sanas.



Figura 6. Producción de plántulas de tomate de cáscara destinadas a producir semilla en invernadero.

## **Transplante**

De las plántulas producidas en las charolas de poliestireno destinadas a ser transplantadas a campo abierto, se eligieron aquellas que visualmente estaban más vigorosas y sin síntomas de virus. El transplante se realizó a los 22 d después de la siembra (Peña *et al.*, 1991).

En el caso de las plántulas producidas en los vasos de unicel, cuando tenían 15 d después de haber emergido, se eligieron aquellas que visualmente no mostraron síntomas de virosis como amarillamiento, moteados, rugosidades y distorsión foliar; se analizaron 100 de ellas con la técnica de inmunoabsorción enzimática en fase sólida en doble sándwich (DAS-ELISA), (Clark y Adams, 1977) para la detección de los virus CMV, AMV y TEV , logrando aislar 40 plántulas libres de éstos patógenos, las cuales se transplantaron en bolsas de polietileno negro de 5 l que contenían tezontle rojo como sustrato, dentro de la jaula anti-insectos.

Para evitar la contaminación con polen de diferentes materiales de tomate de cáscara y garantizar la calidad genética, ambas plantaciones se establecieron a más de un km de distancia de otros lotes de tomate de cáscara (Güemes, 1999).

## **Tratamientos aplicados y diseño experimental**

El experimento en campo abierto (tratamientos 1, 2, 3 y testigo), se realizó empleando un diseño de bloques al azar (Martínez, 1994) con cuatro repeticiones. La unidad experimental estuvo integrada por cuatro surcos de 6.0 m de longitud, con separación de 1.1 m y plantas cada 30 cm. Los tratamientos aplicados se indican a continuación:

**Tratamiento 1.** Se empleó semilla obtenida en invernadero mediante polinización entomófila (por abejas); es decir, los progenitores, al igual que en los tratamientos 2, 3 y 4.



El tratamiento consistió en realizar el combate de plagas de manera convencional, empleando los insecticidas que usualmente se utilizan en el Oriente del Estado de México: Diazinón (Dragon® 25 C.E) 5 ml·l<sup>-1</sup> de agua; paratión metílico (Flash® 50 C.E.) 3 ml·l<sup>-1</sup> de agua y endosulfán (Thiodan ® 35 C.E) 5 ml·l<sup>-1</sup> de agua. Para lograr la producción de semilla, la polinización fue libre (anemófila y entomófila)

**Tratamiento 2.** El tratamiento se desarrolló mediante un manejo biorracional de las plagas, utilizando trampas cilíndricas de color amarillo intenso colocadas sobre el dosel del cultivo y cambiándolas cada 15 d, además de aplicaciones alternadas semanalmente de extracto vegetal de higuera (Shield®) 15 ml·l<sup>-1</sup> de agua, insecticidas de bajo impacto ecológico como Imidacloprid (Confidor ® 350 S.C.) 0.5 ml·l<sup>-1</sup> de agua y oxidimetón metil (Metasystox ® R-25) 5 ml·l<sup>-1</sup> de agua. Para lograr la producción de semilla, la polinización fue libre (anemófila y entomófila)

**Tratamiento 3.** Manejo convencional de plagas mediante aplicaciones de: Diazinón (Dragon® 25 C.E) 5 ml·l<sup>-1</sup> de agua; paratión metílico (Flash® 50 C.E.) 3 ml·l<sup>-1</sup> de agua; endosulfán (Thiodan ® 35 C.E) 5 ml·l<sup>-1</sup> de agua, así como aspersiones semanales de miel disueltas en agua a una concentración del 2 % como antiviral, posible inductor de mecanismos de resistencia sistémica. Para lograr la producción de semilla, la polinización fue libre (anemófila y entomófila)

**Testigo.** Se empleó semilla del Programa de Mejoramiento Genético de esta especie del Departamento de Fitotecnia, misma que fue producida en Campo abierto en el Campo Experimental de Chapingo, mediante polinización libre (entomófila y anemófila) y combate de plagas convencional.

El tratamiento se desarrolló mediante manejo convencional de plagas realizando aplicaciones de: Diazinón (Dragon® 25 C.E) 5 ml·l<sup>-1</sup> de agua, paratión metílico (Flash® 50 C.E.) 3 ml·l<sup>-1</sup> de agua y endosulfán (Thiodan ® 35 C.E) 5 ml·l<sup>-1</sup> litro de agua. Para lograr la producción de semilla, la polinización fue libre (anemófila y entomófila)

**Tratamiento 4.** Cero tolerancia de plagas; por lo cual se desarrolló en un área confinada en invernadero, dentro de la jaula construida para evitar el acceso de insectos; utilizando 20 trampas cilíndricas de color amarillo intenso colocadas entre hileras, mismas que se cambiaron cada 15 d para mantener su adherencia y color, aspersiones alternadas semanalmente de insecticidas Confidor® 350 SC (0.5 ml·l<sup>-1</sup> de agua) y Metasystox® R-25 (5 ml·l<sup>-1</sup> de agua), que no son altamente nocivos al hombre ni al ambiente sobre la estructura externa del invernadero y de la jaula. Debido a la autoincompatibilidad gametofítica en esta especie, para lograr la producción de semilla se efectuó la polinización manual, colectando el polen de todas las plantas y posteriormente agregado a los estigmas de las mismas.

Con los datos derivados de las pruebas de calidad efectuadas a la semilla obtenida de cada uno de los tratamientos aplicados, se realizó un análisis de varianza mediante el Modelo Lineal General (GLM) y posterior comparación de medias de Tukey a un nivel de probabilidad de error  $\alpha = 0.05$ . Los datos fueron abalizados con la versión 9.0 del Statistical Analysis System (Rebolledo, 1998; SAS Institute, 2002)

### **Conducción del experimento**

Debido a que se establecieron las dos plantaciones en condiciones ambientales y tecnológicas diferentes, hubo necesidad de conducirlas de manera independiente, difiriendo en la polinización, fertilización y riegos.

**Fertilización.** En la plantación de campo abierto, desarrollada en el Colegio de Postgraduados se empleó la fórmula de fertilización 160-80-80, aplicando al momento del transplante todo el fósforo y potasio, así como el 50 % de nitrógeno; el resto de este último se aplicó 40 d después (Cruz, 2001). Para el caso de la plantación en invernadero, por tratarse de hidroponía se utilizó la fórmula universal de Steiner (1984), realizando de 2 a 3 riegos todos los días.

**Riegos.** Por las condiciones ambientales prevalecientes en el ciclo de producción, y debido a que coincidió con el período de lluvias, sólo fueron necesarios 4 riegos rodados en campo abierto (al momento del trasplante, a los 7, 28 y 45 d), mientras que en la producción en invernadero, fue necesario aplicar de 2 a 3 riegos diarios a lo largo de todo el ciclo, el primero por la mañana, el segundo y tercero después del medio día cuando se registraban las temperaturas más altas.

**Control de malezas.** Para evitar la transmisión mecánica de virus, el cultivo a campo abierto se mantuvo libre de malezas desde su trasplante hasta la cosecha de frutos destinados a la obtención de semilla. Tal propósito se consiguió realizando deshierbes manuales cuando la maleza alcanzaba un tamaño máximo de 5 cm. En invernadero no fue necesario eliminar malezas, puesto que no aparecieron en todo el ciclo, debido a que el sustrato (tezontle rojo) era de reciente adquisición y no estaba contaminado con semillas.

**Combate de plagas y enfermedades.** Para evitar la presencia de insectos vectores en el invernadero se colocaron 15 trampas cilíndricas de color amarillo intenso entre plantas e hileras con revisiones diarias y reemplazo cada 15 d, además con aspersiones alternadas semanalmente de Confidor® 350 SC ( $0.5 \text{ ml}\cdot\text{l}^{-1}$  de agua) y Metasystox® R-25 ( $5 \text{ ml}\cdot\text{l}^{-1}$  de agua), sobre la superficie interna y externa de la jaula, con lo cual se garantizó la ausencia de insectos vectores durante todo el ciclo de producción.

El combate de plagas en la plantación de campo se realizó de acuerdo con los tratamientos establecidos. En el caso de enfermedades se realizaron aspersiones de Captan® ( $2.5 \text{ gr}\cdot\text{l}^{-1}$  de agua) y Sulfocop® ( $5 \text{ ml}\cdot\text{l}^{-1}$  de agua) cada 15 d en ambas plantaciones.

**Polinización.** En la plantación establecida a campo abierto, la polinización fue anemófila y entomófila; es decir, por el viento e insectos. Para el caso de la plantación establecida en invernadero, la polinización se llevó a cabo de forma manual,

considerando que en el tomate de cáscara no hay autofecundación, pues presenta autoincompatibilidad gametofítica (Pandey, 1957) y que no se permitió la presencia de insecto alguno. La polinización consistió en coleccionar polen de las anteras de todas las plantas y se agregó a los estigmas, lográndose la fecundación y posterior desarrollo del fruto y semilla.

### **Obtención de semilla**

De ambas plantaciones, se seleccionó un fruto por planta y se cosechó cuando éstos tomaron una coloración amarillenta (Güemes, 1999), alcanzando su madurez fisiológica y mayor calidad (Copeland, 1976). Posteriormente se extrajo la semilla en forma individual, utilizando agua corriente y licuadora doméstica, eliminando la pulpa, semilla no desarrollada, quebrada y otras impurezas por decantación. Una vez extraída la semilla, se dejó secar a la sombra y se almacenó a 4 °C para conservar su porcentaje de germinación.

### **Variables evaluadas en el proceso de producción de semilla**

Durante el proceso de producción de semilla a campo abierto e invernadero se evaluó el número de áfidos (vectores de los virus CMV, AMV y TEV) de cada tratamiento en trampas amarillas, además de su identificación con microscopio y clave dicotómica (Urias *et al.*, 1992)

### **Pruebas de calidad sobre la semilla producida**

Se realizaron pruebas de calidad física, fisiológica, genética y sanitaria sobre las semillas obtenidas en ambas plantaciones, mediante el diseño experimental de bloques completos al azar con 4 repeticiones, empleando la semilla obtenida de campo e invernadero, es decir, de los tratamientos 1, 2, 3, 4 y Testigo. Conformando un total de 20 unidades experimentales. Cada unidad experimental estuvo constituida por 100

semillas (colocando 25 semillas/caja petri) en cada repetición, para un total de 400 por tratamiento (ISTA, 2004).

### **Pruebas de Calidad física**

Para la calidad física de la semilla se consideraron las siguientes evaluaciones:

**a) Peso volumétrico (PV).** Se expresa en gramos y se obtuvo a partir de un volumen de 3.5 cm<sup>3</sup> de semilla; el cual se tomó como base debido a la poca cantidad de semilla disponible en cada repetición por tratamiento aplicado. El peso se obtuvo en una báscula digital (Ohaus) con capacidad para 300 g y aproximación a décima de gramo.

**b) Peso de mil semillas (PMS).** Se tomaron al azar ocho repeticiones de 100 semillas y se pesaron por separado en la báscula digital.

### **Pruebas de calidad fisiológica**

Con la finalidad de determinar si la calidad fisiológica de la semilla producida para cada uno de los tratamientos y plantaciones era la misma, se realizaron las pruebas de germinación y vigor.

#### **a) Prueba de germinación**

Para esta prueba se formó un compuesto de 400 semillas de cada tratamiento, mismas que fueron distribuidas en cajas petri, las cuales previamente se desinfectaron con una solución al 5 % de cloro, para enseguida colocar el papel filtro. Las cajas petri se regaron con agua destilada diariamente. La prueba de germinación se realizó en presencia de luz las 24 horas del día, con una temperatura de 25 °C (ISTA, 2004).

Durante esta prueba se realizaron dos recuentos, el primero al 7° día y el segundo 20 d después (ISTA, 2004) y se consideraron las siguientes variables:

**1. Porcentaje de germinación (PG).** Se obtuvo sumando el total de las plántulas normales del primer y segundo conteo.

**2. Porcentaje de plántulas anormales (PPAN).** Aquellas que presentaron malformaciones en sus estructuras esenciales como raíz y plúmula, lo que impide su desarrollo normal.

**3. Porcentaje de semillas latentes (PSL).** Aquellas que al final de la prueba permanecieron sin emitir la radícula, ni alguna otra estructura. Para lo cual se realizó la prueba de viabilidad con tetrazolio al 0.1 % (ISTA, 2004).

**4. Porcentaje de semillas muertas (PSM).** Se consideraron todas aquellas que presentaron ataque por hongos o bacterias, además de las resultantes de la prueba de viabilidad.

## **b) Prueba de vigor**

Para esta prueba se evaluó el índice de vigor total y el peso de materia seca de las plántulas.

**1. El índice de vigor** total se determinó como la relación del número de plántulas emergidas en cada uno de los conteos, entre el número de días de cada conteo, de acuerdo a la fórmula de Maguire (citado por Copeland y McDonald, 1995):

$$V.E. = \sum_{i=1}^n \frac{X_i}{C_i}$$

Donde:

V. E. = Velocidad de emergencia

$X_i$  = Número de plántulas emergidas en el  $i$ -ésimo día a partir del primer conteo

$C_i$  = Número de días del primer al  $i$ -ésimo conteo

$i = 1, \dots, n$  conteos

**2. Peso seco.** Las plántulas de cada unidad experimental fueron secadas en estufa durante 72 horas a 70 °C y se registró su peso (g), para conocerla cantidad de materia seca (ISTA, 2004).

### **Pruebas de calidad sanitaria**

Para determinar la sanidad de la semilla producida, se emplearon 400 semillas obtenidas de cada uno de los tratamientos experimentales (ISTA, 2004). Con éstas se formaron 40 grupos de 10 semillas, mismas que fueron maceradas en forma individual en 2 ml de amortiguador de extracción, para la detección de los virus CMV, AMV y TEV con la prueba de ELISA para fosfatasa alcalina, siguiendo el protocolo de Clark y Adams (1977). Los valores de absorbancia de cada muestra se registraron en un fotocolorímetro automático “Dynatech Minireader” (Dynatech Laboratorios Inc, Alexandria, VA), a una longitud de onda de 405 nm. La reacción se consideró positiva cuando la lectura fue mayor al valor promedio de los controles negativos más tres veces la desviación estándar (Sutula *et al.*, 1986).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Obtención de progenitores en invernadero**

La revisión e identificación de las especies de áfidos durante el ciclo de producción (figura 7), indicaron la presencia de poblaciones de *Myzus persicae*, *Aphis gossypii*, además de otras especies de insectos como *Thrips* sp., *Trialeurodes vaporariorum*, *Bactericera cockerelli* y *Heliothis subflexa*.



Figura 7. Plantación establecida en invernadero e hidroponía para la obtención de progenitores de tomate de cáscara.

### Proceso de producción de semilla

Durante el ciclo de producción de semilla en campo abierto desarrollado en el Colegio de Postgraduados, se detectaron las siguientes especies de plagas: *Myzus persicae*, *Aphis gossypii*, además de otras especies de insectos como *Thrips* sp., *Trialeurodes vaporariorum*, *Bactericera cockerelli*, *Heliothis subflexa*, *Epitrix cucumeris*, *Liriomyza* sp., y *Acalymma* sp., mismas que son reportadas en este cultivo por diferentes autores, Bautista y Morales 2000, Anaya 1992, Jiménez *et al.*, 1992 y Ramírez 2007. En la producción desarrollada en el área confinada dentro del invernadero, no se detectó presencia de plagas, debido a que la jaula diseñada impidió acceso al interior y al cultivo.

De acuerdo al análisis de varianza realizado estadístico realizado se presentaron diferencias significativas en la presencia de áfidos en cada uno de los tratamientos aplicados e la producción de semilla (Cuadro 6).



Cuadro 6. Cuadrados medios y significancia estadística de la presencia de áfidos en los diferentes tratamientos aplicados en la producción de semilla de tomate de cáscara.

FV	GL	Variables		
		Ápteros	Alados	Total
Tratamientos (Cuadrados medios)	7	17927.00 **	2666.12 **	34242.75 **
Error	12	31.01	33.92	29.97
Total	19			
F Calculada		578.00	78.53	1142.38
Pr > F		< .0001	< .0001	< .0001
C.V.		4.51	11.64	3.15
R <sup>2</sup>		0.99	0.97	0.99

\*\* Altamente significativo al 0.05 %; FV = Fuentes de variación; GL = Grados de libertad; Pr > F = Probabilidad de F.

De los muestreos realizados para la detección de áfidos en ambas plantaciones, se encontraron diferencias significativas entre tratamientos para las variables ápteros, alados y total de áfidos presentes (Cuadro 7).

Cuadro 7.- Efecto promedio de los diferentes tratamientos relativos a la presencia de áfidos en tomate de cáscara.

Tratamiento	Variable		
	Ápteros	Alados	Total
Testigo	194.50 a	76.25 a	270.25 a
Manejo convencional, miel al 2% y semilla de invernadero (T3)	182.75 a b	69.50 a	252.25 b
Combate convencional de plagas y semilla de invernadero (T1)	181.00 b	74.75 a	269.25 b
Manejo biorracional de plagas y semilla de invernadero (T2)	58.50 c	29.50 b	88.00 c
Área confinada en invernadero y semilla obtenida de invernadero	0.00 d	0.00 c	0.00 e
DMS 0.05	12.55	13.12	12.33

Medias con la misma letra en sentido vertical son iguales estadísticamente (Tukey,  $\alpha = 0.05$ ): DMS = Diferencia mínima significativa.

La cantidad de áfidos ápteros fue mayor significativamente en el testigo y en el tratamiento tres, que consistió en un manejo convencional de plagas más la aplicación de miel como posible inductor de resistencia sistémica; sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre este último y el tratamiento uno, desarrollado mediante el combate convencional de plagas. En cuanto a la presencia de alados, no hubo diferencia significativa entre el testigo y los tratamientos uno y tres, mismos que superan al tratamiento dos (manejo de plagas biorracional) y al realizado en el área confinada dentro del invernadero. En general, se presentó mayor cantidad de áfidos totales en el testigo, superando significativamente a los detectados en el resto de los tratamientos.

En el área confinada dentro del invernadero, en las plantas y en las trampas amarillas que se revisaron a diario, no se detectó presencia de algún áfido durante todo el ciclo de producción de semilla dentro de la jaula, debido a que la misma impidió el acceso de estos insectos (figura 8).



Figura 8. Producción de semilla de tomate de cáscara en invernadero libre de insectos

Por otra parte, de los cuatro tratamientos aplicados en campo, el manejo biorracional de plagas, fue el que presentó menor cantidad de áfidos ápteros y alados; lo cual se

debe al manejo a base de plaguicidas y al establecimiento de trampas amarillas (figura 9), que ayudaron a capturar a estos fitófagos (alados), retrasando o disminuyendo su establecimiento en las plantas; de ahí que la cantidad de alados encontrados en el cultivo con este tratamiento, haya sido menor que los encontrados en el resto de los tratamientos en campo abierto.



Figura 9. Manejo biorracional de plagas en el cultivo de tomate de cáscara a campo abierto.

En este ciclo de producción en campo abierto se detectaron áfidos ápteros y alados, debido a que sus poblaciones emigran de un cultivo a otro, de ahí que haya alados al inicio y al final del cultivo, situación reportada previamente en tomate de cáscara por Ramírez (2007) en el Altiplano Poblano.

### **Pruebas de calidad de la semilla producida**

La calidad de la semilla comprende varios atributos deseables como su capacidad de establecerse en campo, su poder de germinación y vigor apropiado. A continuación se indican los resultados de las pruebas de calidad en la semilla obtenida en campo abierto e invernadero (área confinada libre de insectos)

## Pruebas de calidad física

En esta prueba se encontraron diferencias significativas entre tratamientos para las variables peso de mil semillas y peso volumétrico (Cuadro 8).

Cuadro 8. Cuadrados medios y significancia estadística en las variables peso de mil semillas y peso volumétrico como pruebas de calidad física de la semilla producida.

FV	GL	Variables	
		Peso de 1000 semillas	Peso Volumétrico
Tratamientos (Cuadrados medios)	7	0.0406 **	0.0189 *
Error	12	0.0001	0.0044
Total	19		
F Calculada		279.08	4.27
Pr > F		< .0001	0.0136
C.V.		0.4724	5.3116
R <sup>2</sup>		0.99	0.7136

\*Significativo al 0.05 %; \* \* Altamente significativo al 0.05 %; FV = Fuentes de variación; GL = Grados de libertad; Pr > F = Probabilidad de F.

En la variable peso de mil semillas, el mejor resultado se obtuvo en la semilla producida en el área confinada dentro del invernadero, superando los demás tratamientos. Seguida de la obtenida bajo el tratamiento manejo biorracional de plagas, que es mayor en calidad a los tratamientos manejo convencional más miel como posible inductor de resistencia sistémica, manejo convencional y al testigo. Respecto al peso volumétrico, se obtuvieron mejores resultados en la semilla obtenida del área confinada en invernadero (Cuadro 9).

Cuadro 9.- Efecto promedio de los diferentes tratamientos relativos a la calidad física de la semilla de tomate de cáscara.

Tratamiento	Variable	
	Peso de mil semillas (mg)	Peso volumétrico (mg/cm <sup>3</sup> )
Área confinada en invernadero y semilla obtenida de invernadero	2.72 a	1.40 a
T2 Manejo de plagas biorracional y semilla de invernadero	2.60 b	1.25 a b
T3 Manejo convencional, miel al 2 % y semilla de invernadero	2.54 c	1.23 b
T1 Combate de plagas convencional y semilla de invernadero	2.54 c	1.20 b
Testigo	2.36 d	1.17 b
DMS 0.05	0.02	0.15

Medias con la misma letra en sentido vertical son iguales estadísticamente (Tukey,  $\alpha = 0.05$ ); DMS = Diferencia mínima significativa.

De manera general, se obtuvo mejor calidad física de la semilla de tomate de cáscara, en aquella producida en el área confinada dentro del invernadero, debido a que el cultivo se desarrolló en mejores condiciones ambientales, relacionadas con control de temperaturas, nutrición y plagas, lo cual se tradujo en producción de frutos de tamaño uniforme y semilla con mayores reservas.

La temperatura promedio mensual durante el crecimiento vegetativo del ciclo de producción en invernadero fue de 21.9 °C y humedad relativa (HR) del 67 %; y 30.3 °C durante la etapa de floración con humedad relativa del 71.3 % mientras que en campo abierto fue de 17 °C con un 69 % de humedad relativa en el ciclo vegetativo y 22.9 °C con 70 % de HR en la etapa de floración. De acuerdo con Saray y Loya (1977), la temperatura ideal para el desarrollo del tomate de cáscara es de 20 a 30 °C para la germinación y de 22 a 25 °C para el crecimiento vegetativo. En la etapa de floración

requiere de 30 a 32 °C. De ahí que las condiciones ambientales también influyeron para que la mejor calidad de semilla se haya obtenido en la producida en invernadero.

### Pruebas de calidad fisiológica

Se observaron diferencias estadísticas en las variables porcentaje de germinación, semillas latentes y semillas muertas evaluadas en la prueba de germinación (Cuadro 10), no así en el porcentaje de plántulas anormales.

Cuadro 10. Cuadrados medios y significancia estadística relativos a la calidad fisiológica de la semilla de tomate de cáscara.

FV	GL	Variables					
		Ger	Anor	Lat	Muer	Pseco	IV
Tratamientos (Cuadrados medios)	7	31.70 *	1.02	7.10 **	8.04 *	31.01 **	184.92 **
Error	12	4.27	0.91	0.66	2.74	0.25	5.34
Total	19						
F Calculada		7.42	1.12	10.66	2.93	122.26	34.59
Pr > F		0.001	0.41	0.0003	0.04	< .0001	< .0001
C.V.		2.26	41.62	25.12	51.74	0.71	2.02
R <sup>2</sup>		0.81	0.39	0.86	0.63	0.98	0.99

\*Significativo al 0.05 %; \*\* Altamente significativo al 0.05 %; FV = Fuentes de variación; GL = Grados de libertad; Pr > F = Probabilidad de F; Ger = Porcentaje de germinación; Anor = Porcentaje de plántulas anormales; Lat = Porcentaje de semillas latentes; Muer = Porcentaje de semillas muertas; Pseco = Peso seco de plántulas; IV = Índice de vigor.

El mayor porcentaje de germinación y menor número de semillas latentes y muertas se obtuvo tanto en las semillas producidas en el área confinada dentro del invernadero (Figura 10), como en las cosechadas de los tratamientos que consistieron en manejo biorracional y manejo convencional más miel.



Figura 10. Prueba de germinación de la semilla obtenida en el área confinada dentro del invernadero y el testigo

Es decir, se logró mejor calidad fisiológica con estos tratamientos, superando a la semilla obtenida en el testigo y la generada mediante el combate convencional de plagas (Cuadro 11). Entre estos dos últimos tratamientos no hubo diferencias significativas. La nutrición de la planta madre y el medio ambiente son factores de gran importancia que afectan la calidad de la semilla (Perl, 1987, citado por Cruz, 2001).

Cuadro 11.- Efecto promedio de los diferentes tratamientos relativos a la calidad fisiológica de la semilla de tomate de cáscara.

Tratamiento	Variable						
	Ger	Anor	Lat	Muer	Pseco	IV	
Invernadero	95.25 a	1.50 a	1.25 b	1.75 b	75.26 a	43.01 a	
T2	94.00 a	2.25 a	2.25 b	1.50 b	71.41 b	33.14 b	
T3	91.50 a b	3.25 a	2.75 b	2.50 a b	70.42 b	31.32 b c	
T1	88.25 b	2.25 a	4.75 a	4.75 a b	67.17 c	26.96 c	
Testigo	87.00 b	2.25 a	5.25 a	5.50 a	66.07 c	18.48 d	
DMS 0.05	4.66	2.15	1.84	3.73	1.13	5.21	

Medias con la misma letra en sentido vertical son iguales estadísticamente (Tukey,  $\alpha= 0.05$ ); DMS = Diferencia mínima significativa; Invernadero: Área confinada en invernadero; T1: Combate de plagas convencional y semilla de invernadero; T2: Manejo de plagas biorracional y semilla de invernadero; T3: Manejo convencional, miel al 2% y semilla de invernadero Ger: Porcentaje de germinación; Anor: Porcentaje de plántulas anormales; Lat: Porcentaje de semillas latentes; Muer: Porcentaje de semillas muertas; Pseco: Peso seco de las plántulas; IV: Índice de vigor.

Los valores de germinación obtenidos en la semilla proveniente de los tratamientos de invernadero, manejo biorracional y manejo convencional más miel, son similares a los registrados en la semilla de tomate de cáscara de esta misma variedad, producida durante el ciclo primavera-verano 2005, producida en el Campo Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, cuyos valores superaron el 90 % (Pérez *et al.*, 2008).

Los porcentajes de germinación alcanzados son un excelente nivel para el comercio de semillas, ya que de acuerdo con el Sistema Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS), se requiere de un 85 % como mínimo para las categorías de semilla básica, registrada y certificada (PRODUCE, 2005). La capacidad de la semilla para germinar y producir una plántula normal es el principal atributo para evaluar su calidad y potencial agrícola (Moreno, 1984). Copeland y McDonald (2001), mencionan que los lotes de semilla que tienen viabilidad y capacidad de germinación altas, presentan mayor longevidad durante el almacenamiento que los lotes de baja viabilidad.

En cuanto a la prueba de vigor, los resultados indican diferencias significativas para las variables peso seco e índice de vigor (Cuadro 11). Se obtuvo mayor vigor en la semilla producida en el área confinada dentro del invernadero, que la semilla de los demás tratamientos. En segundo plano aparecen los resultados logrados con los tratamientos biorracional y manejo convencional más miel como antiviral.

Lo anterior, se debe a que las reservas de nutrimentos en la semilla, influyen en la velocidad de desarrollo de las plántulas bajo determinadas condiciones, al ser un factor que afecta el vigor de las mismas. Mientras que las condiciones ambientales tienen influencia directa sobre las reservas de nutrimentos de la semilla e influyen en el vigor de la siguiente generación (Perl, 1987, citado por Cruz, 2001).

En general, la mayor calidad fisiológica se logró en la semilla producida en el área confinada dentro del invernadero y aquella con manejo biorracional y manejo convencional más miel. La calidad fisiológica implica integridad de las estructuras y procesos fisiológicos que permiten a la semilla mantener altos índices de viabilidad (Moreno *et al.*, 1998) y puede ser alterada por el manejo de la planta madre durante su



desarrollo, en las operaciones de cosecha, procesamiento y las condiciones de almacenamiento hasta que las semillas sean sembradas (Sawan *et al.*, 1999). Sus principales indicadores son la germinación y el vigor, que dependen del genotipo y del cuidado en la producción y manejo poscosecha (Copeland y McDonald, 2001).

El conocimiento del vigor como componente de la calidad fisiológica de la semilla, es importante para garantizar densidades de población óptimas, a fin de maximizar rendimiento y calidad de la producción (Hampton y Coolbear, 1990).

De acuerdo con Doijode (2001), el vigor juega un papel muy importante durante el almacenamiento de semillas. Las que son vigorosas poseen un mayor potencial de almacenamiento y se preservan bien por largos periodos. Asimismo, cuando las semillas son vigorosas producen plántulas uniformes, fuertes y sanas que tienen mejor establecimiento en campo y muestran mayor longevidad.

### **Pruebas de calidad sanitaria**

De acuerdo con el análisis de varianza realizado, se presentaron diferencias significativas para las variables transmisión por semilla de los virus *Alfalfa mosaic alfamovirus* (AMV), *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) y *Tobacco etch potyvirus* (TEV) entre los tratamientos aplicados (Cuadro 12). Johansen *et al.* (1994) mencionan que la transmisión del AMV por semilla está asociada a la infección del embrión, ya que el virus presente en la testa y en el endospermo puede inactivarse durante el proceso de maduración, almacenamiento y deshidratación de la semilla. De ahí que la transmisión por este medio está determinada por la invasión directa o indirecta del embrión y por la supervivencia del virus durante la formación de la semilla, almacenamiento y germinación. Por tal motivo, el AMV se encuentra en el embrión de las semillas de tomate de cáscara, toda vez que los frutos se cosechan cuando estos alcanzan su madurez fisiológica, y una vez extraída la semilla se deja secar para posteriormente almacenarse y así conservar su calidad.

Cuadro 12. Cuadrados medios y significancia estadística en el porcentaje de transmisión de los virus *Alfalfa mosaic alfamovirus* (AMV), *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) y *Tobacco etch potyvirus* (TEV) en 40 muestras compuestas de 10 semillas/tratamiento.

FV	GL	Variables		
		AMV	CMV	TEV
Tratamientos (Cuadrados medios)	7	1309.20 **	658.64 **	597.90 **
Error	12	4.67	1.45	2.62
Total	19			
F Calculada		280.04	451.64	227.77
Pr > F		< .0001	< .0001	< .0001
C.V.		5.74	4.16	6.13
R <sup>2</sup>		0.99	0.99	0.99

\*Significativo al 0.05 %; \*\* Altamente significativo al 0.05 %; FV = Fuentes de variación; GL = Grados de libertad; Pr > F = Probabilidad de F.

Los resultados indican mayor porcentaje de transmisión de los virus AMV, CMV y TEV en la semilla obtenida del testigo, mientras que el manejo biorracional y manejo convencional más miel, generaron los menores porcentajes de transmisión de estos fitopatógenos en la plantación de tomate de cáscara establecida a campo abierto (Cuadro 13). De acuerdo con Huber (1989), las plantas que reciben una nutrición mineral balanceada son más tolerantes a las enfermedades. De ahí que las plantas con manejo biorracional y manejo de plagas convencional más miel, produjeran el menor porcentaje de semilla infectada por virus de la plantación establecida a campo abierto, ya que la miel de abeja está formada por tres componentes principales: carbohidratos, agua y minerales (Crane, 1985; Prior, 1989). Con lo que se aumenta el nivel de energía para la absorción activa, favoreciendo la incorporación de nutrientes, que a su vez favorecen el vigor de las plantas (Rodríguez, 1997).

Cuadro 13.- Efecto promedio de los diferentes tratamientos relativos al porcentaje de transmisión de los virus *Alfalfa mosaic alfamovirus* (AMV), *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) y *Tobacco etch potyvirus* (TEV) en 40 muestras compuestas de 10 semillas/tratamiento

Tratamiento	Transmisión por semilla (%)		
	AMV	CMV	TEV
Testigo	64.75 a	42.75 a	39.25 a
Combate de plagas convencional y semilla de invernadero (T1)	49.25 b	39.50 b	39.75 a
Manejo convencional, miel al 2% y semilla de invernadero (T3)	38.00 c	31.25 c	28.00 b
Manejo de plagas biorracional y semilla de invernadero (T2)	36.25 c	31.50 c	25.00 b
Área confinada en invernadero y semilla obtenida de invernadero	0.00 d	0.00 d	0.00 c
DMS 0.05	4.87	2.72	3.65

Medias con la misma letra en sentido vertical son iguales estadísticamente (Tukey,  $\alpha = 0.05$ ); DMS = Diferencia mínima significativa.

Agrios (2005), señala que la disminución de nitrógeno soluble durante la rápida síntesis del virus es un fenómeno común en las enfermedades virales de las plantas, y en el caso de los mosaicos el nivel de los carbohidratos en los tejidos de la planta disminuye en forma drástica, de ahí que el tratamiento con miel aplicada al 2 % vía foliar haya contribuido posiblemente a tener una mejor calidad sanitaria de semillas con respecto del testigo.

Por otra parte, la semilla producida en el área confinada dentro del invernadero, resultó libre de virus, debido a que la jaula construida para tal fin, impidió el acceso a cualquier insecto, además de que el sustrato utilizado era estéril y no contenía semilla de malezas que pudieran contribuir a la diseminación de virus por transmisión mecánica de malezas al cultivo referido (Figura 11).



Figura 11. Producción de semilla libre de virus en invernadero

La producción de semilla libre de virus reviste una gran importancia, principalmente por el hecho de que la transmisión de virus por esta vía, permite que estos fitopatógenos sean transmitidos de una generación de plantas o otra (Agrios, 2005). En la plantación establecida a campo abierto se presentaron los primeros síntomas de virus al iniciar la etapa de floración, como amarillamientos, mosaicos, achaparramiento y distorsión foliar, asociados a la presencia de AMV, CMV y TEV, encontrando con mayor frecuencia el virus AMV (Figura 12). De acuerdo con Šutić *et al.*, (1999), la infección por AMV retarda el crecimiento de las plantas, reduce la floración y amarre de frutos; lo cual coincide con los daños observados en las plantas de tomate de cáscara infectadas con virus durante el ciclo de producción de semilla desarrollado a campo abierto. En general, los virus hacen que disminuya la fotosíntesis de la planta al reducir el nivel de la clorofila por hoja, la eficacia que tiene esta molécula fotosintética y el área foliar por planta. Por lo común, los virus disminuyen la cantidad de sustancias reguladoras del crecimiento (hormonas) de la planta, al inducir un aumento en las sustancias inhibitoras del crecimiento. La disminución de nitrógeno soluble durante la rápida síntesis del virus es un fenómeno común en las enfermedades virales de las plantas, y en el caso de los mosaicos el nivel de los carbohidratos en los tejidos de la planta

disminuye en forma drástica (Agrios, 2005). La presencia de los virus encontrados coincide con la detección realizada por De la Torre *et al.*, (2002) en una colecta de muestras de tomate de cáscara en parcelas comerciales ubicadas en los Estados de México, Puebla y Morelos, que mostraron síntomas de origen viral como: mosaico, moteado, deformación y proliferación foliar, con reducción del tamaño de hojas, acompañado de amarillamiento intervenla severo, detectando en laboratorio los virus AMV, TEV, CMV, TMV y TSWV. En Yurécuaro, Mich., se observó en tomate de cáscara un mosaico, supuestamente causado por TMV, que se manifestó después del manejo manual de las plantas (Sainz y Ramírez, 1991).

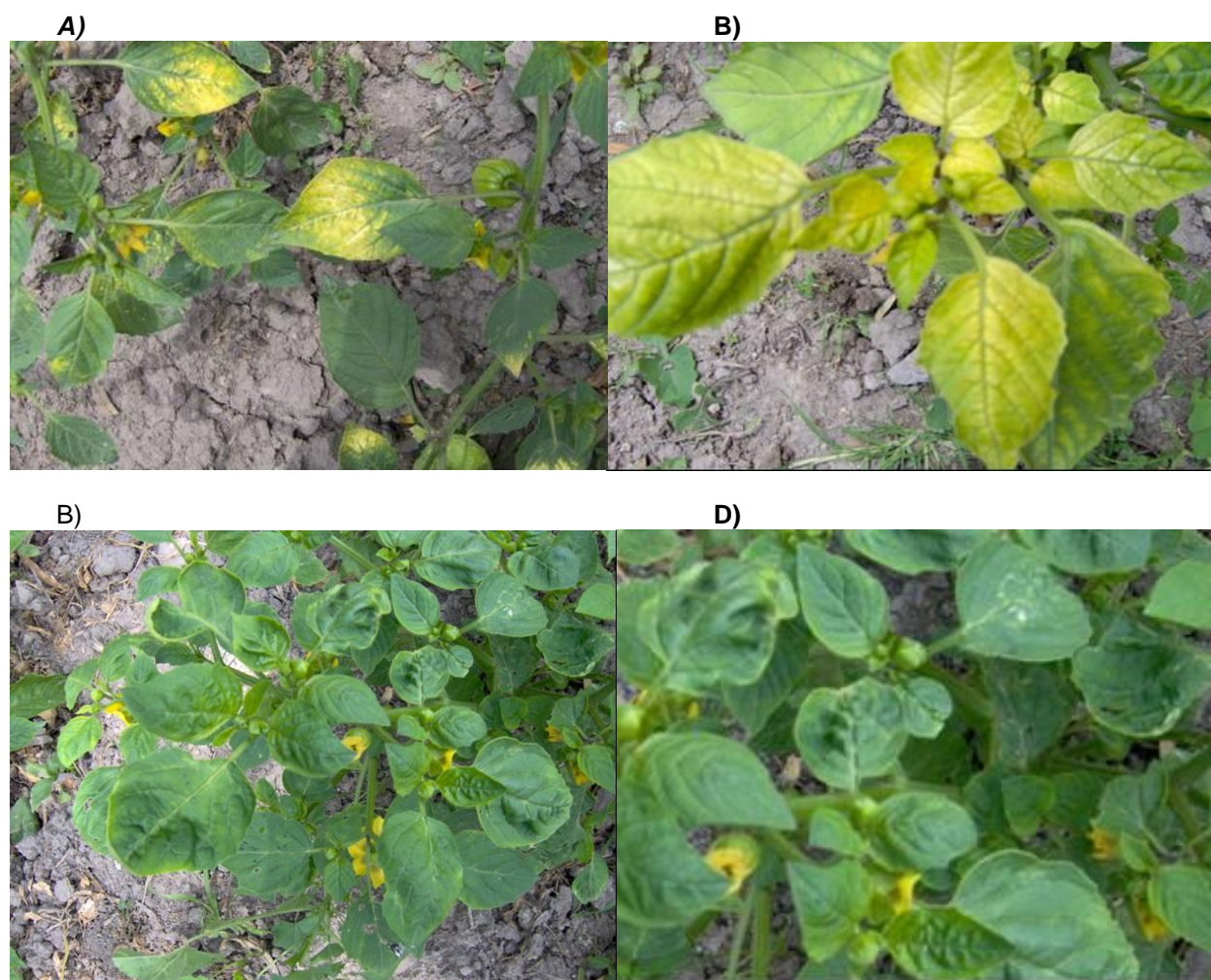


Figura 12. Síntomas observados en el cultivo de *Physalis ixocarpa* establecido a campo abierto en el Colegio de Postgraduados: A) Amarillamiento foliar asociado al AMV; B) Amarillamiento foliar y enanismo asociado al AMV; C) Severa deformación y clorosis foliar asociada al TEV y CMV; D) Rugosidad foliar y clorosis de nervaduras asociadas al TEV.

Las enfermedades ocasionadas por virus en tomate de cáscara se han incrementado considerablemente en los últimos años en el norte de Sinaloa, lo que ha ocasionado pérdidas económicas hasta del 100 %. El AMV es considerado como uno de los más importantes en este cultivo, ya que puede transmitirse por semilla, por lo que la producción de ésta debe ser regulada por normas de calidad fitosanitaria para evitar o disminuir las enfermedades virales en este cultivo (PRODUCE, 2005).

## **CONCLUSIONES**

Bajo las diferentes condiciones en que se realizó la producción de semilla de tomate de cáscara, en relación con su respuesta a la calidad física, fisiológica y sanitaria, se concluyó lo siguiente:

1. En el área confinada se logró evitar la presencia de áfidos y otras plagas en las plantas de tomate de cáscara, durante el proceso de producción de semilla conducido en invernadero.
2. Producir semilla en el área confinada libre de insectos vectores, permitió obtener semilla libre de los virus AMV, CMV y TEV.
3. La mejor calidad física de la semilla, se logró en aquella libre de virus producida en el área confinada dentro del invernadero.
4. El mayor porcentaje de germinación se logró en las semilla libre de virus producida en el invernadero, así como en la obtenida del manejo biorracional y biorracional más miel como posible inductor de resistencia sistémica.
5. El índice de vigor más alto se obtuvo de la semilla libre de virus.
6. Mediante el manejo de plagas convencional más miel; así como manejo de plagas biorracional, se obtuvieron los menores porcentajes de transmisión por

semilla de los virus *Alfalfa mosaic alfamovirus* (AMV), *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) y *Tobacco etch potyvirus* (TEV), en el proceso de producción de semilla conducido en campo abierto.

7. Mediante el manejo de plagas convencional más miel; así como manejo de plagas biorracional, se obtuvieron los menores porcentajes de transmisión por semilla de los virus *Alfalfa mosaic virus* (AMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV) y *Tobacco etch virus* (TEV), en el proceso de producción de semilla conducido en campo abierto.
8. En general, la producción de semilla libre de virus en el área confinada dentro del invernadero, generó la mejor calidad física y fisiológica y sanitaria; seguida de aquella obtenida mediante el manejo biorracional de plagas; y del manejo convencional más aplicaciones de miel al 2 %, desarrollados a campo abierto.

## LITERATURA CITADA

- Agrios, N.G. 2005. Fitopatología. Edit. Limusa, S.A. de C.V., Grupo Noriega Editores. México, D.F. 838 p.
- Anaya, R. S. 1992. Especies del Orden Coleóptera que Atacan a las Hortalizas en México, pp. 15-18. *In*: Anaya R., S.; Bautista, M.N., y Domínguez, R. B. (Eds.). Manejo Fitosanitarios de las Hortalizas en México. Centro de Entomología y Acarología. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.
- Bautista, M. N. y O. Morales G. 2000. *Melanagromyza tomaterae* Steykal (Diptera: Agromyzidae) Plaga del Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en México. Nota Científica. Fol. Entomol. Mex. 110: 129-130.
- Brunt, A.; K. Crabtree and A. Gibbs. 1990. Viruses of Tropical Plants. CAB International Redwood Press Ltd. Melksham, Wiltshire, Wallingford, Oxon, United Kingdom. 707 p.
- Chellemi, D.O.; Funderburk E. J., and Hall, W. D. 1994. Seasonal Abundance of Flower in Habiting *Frankliniella* Species (Thysanoptera: Thripidae) on Wild Plant Species. Environ. Entomol. 23:337-342.
- Clark, M. F. and A. M. Adams. 1977. Characteristics of Microplate Method of Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Detection of Plant Viruses. J. Gen. Virol. 34: 475-483.
- Copeland, L. O. 1976. Principles of Seed Science and Technology. Burgess Publishing Company, Minnesota, United States of America. 343 p.
- Copeland, L. O. and M. B. McDonald. 1995. Principles of Seed Science and Technology. Third edition. Chapman and Hall. New York, United States of America. 321 p.
- Copeland, O.L., and McDonald, M.B. 2001. Principles of Seed Science and Technology. Fourth edition. Kluwer Press, New York. 409 p.
- Crane, E. 1985. El Libro de la Miel. Fondo de cultura económica, México, D.F.
- Cruz, L. B. 2001. Fertilización y Manejo de Cosecha en la Producción de Fruto y Semilla de Tomate de Cáscara. Tesis de Maestro en Ciencias. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad Especialidad en Genética. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 138 p.
- De la Torre, A. R.; M. Salazar S. y R. Valverde. 2003. Etiología del Moteado Amarillo del Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en México. Agroc. 37: 277-289.
- De La Torre, A. R.; R. Valverde.; J. Méndez L.; J. T. Ascencio I. y R. F. Rivera. B. 2002. Caracterización Preliminar de Geminivirus en Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* B.) en la Región Centro de México. Agroc. 36(4): 471-481.
- De la Torre, A. R.; Téliz, O. D.; Barrón, R. B. L.; Cárdenas, S. E.; García, L. E.; Cárdenas, A. M. y Valverde A.R. 1995<sup>a</sup>. Detection of A Viral Complex in Tomatillo *Physalis ixocarpa* in the Central High Plateau of Mexico. Phytopathol. 85 (4): 509.
- De la Torre, A. R.; Téliz, O. D.; Garzón, A. J.; Peña, R.; Valverde A.R. y Rivera, B.R. 1995<sup>b</sup>. *Physalis* Interveinal Yellowing and *Physalis* Calico: Two



- Geminiviruses Isolated from Tomatillo *Physalis ixocarpa* in the Central High Plateau of Mexico. *Phytopathol.* 85(4): 509.
- Delouche, J.C. 2002. Germinación, Deterioro y Vigor de Semillas. *Seed News.* 6:6.
- Doijode, S.D. 2001. Seed Storage of Horticultural Crops. Food Products Press. Binghamton, NY. United States of America. 339 p.
- Edwardson, J.R., and Christie R. G. 1997. Viruses Infesting Solanaceous Crops. University of Florida Extension Station, IFAS.
- Fageria, N.K.; Baligar, C.V. and Jones A. Ch. 1997. Growth and Mineral Nutrition of Fields Crops. 2<sup>nd</sup>. Edition. Marcel Dekker, Inc. New York. 141 p.
- Frosheiser, F.I. 1974. Alfalfa mosaic virus Transmission to Seed Trough Alfalfa Gametes and Longevity in Alfalfa Seed. *Phytopathol.* 64:102-105.
- Graham, R.D. 1983. Effects of Nutrients Stress on Susceptibility of Plant to Disease with Particular Reference to the Trace Elements. *In: H.W. Woodlouse. Adv. Bot. Res.* 10: 221-276.
- Güemes, G. M. J. 1999. Producción de Semilla de Tomate de Cáscara Variedad Rendidora en el Estado de Morelos. *In: 500 Tecnologías Llave en Mano. División Agrícola Tomo II Ed. SAGAR. INIFAP, Zacatepec, Morelos. Pp. 102-103.*
- Hampton, J.G. and Coolbear. 1990. Potential Versus Actual Seed Performance-Can Vigor Testing Provide Answer. *Seed Sci. and Technol.* 18:215-228.
- Harris, K.F. 1977. Leafhoppers and Aphids as Biological Vectors: Vectors Virus Relationships. Pp: 217-308. *In: Maramorosch K, K.F. Harris. Leafhopper Vectors and Plant Disease Agents. Eds. Academic Press, New York.*
- Hemmati, K. and McLean, D.L. 1977. Gamete Seed Transmission of Alfalfa mosaic virus and its Effect on Seed Germination and Yield in Alfalfa Plants. *Phytopathol.* 67: 576-579.
- Hernández, R. H. y Sifuentes, A.J. 1974. Ensayo de Resistencia del Jitomate y del Tomate de Cáscara, al "Chino" y a la Mosquita Blanca en el Estado de Morelos. *Agric. Téc. en México.* 3(8): 305-309.
- Huber, D.M. 1989. Soilborne Plant Pathogen: Management of Disease with Macro and Microelements. Introduction. *In: A.W. Engelhard (Ed.). APS Press. St. Paul, Minnesota.* 325 p.
- Hull, R. 2002. *Matthew's Plant Virology.* Academic Press Inc, London UK. 1001 p.
- INIFAP. 2004. El Amarillamiento en el Cultivo de Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) y Medidas y Para su Manejo. Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Centro. Campo Agrícola Experimental Zacatepec. 23 p.
- ISTA. 2004. International Rules for Seed Testing. The International Seed Testing Association. Bassersdorf, CH-Switzerland. 700 p.
- Jiménez, G. R.; R. Domínguez R. y A. Peña L. 1992. Plagas Insectiles del Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en Chapingo, México. *Rev. Chapingo.* 16(77): 75-79.
- Johansen, E. M.; C. Edwards. and R. O. Hampton. 1994. Seed Transmission of Viruses: Current Perspectives. *Ann. Rev. Phytopathol.* 32: 363-386.
- Jones, R.K. and Baker, R.J. 1991. TSWV: Symptoms, Host Range and Spread. *In: Virus-Thrips-Plant Interactions of TSWV. Hsu, H.T. and Lawson, R.H. (Eds.).*

- Proceedings of the USDA Workshop. Beltsville, United States of America. Pp: 89-93.
- Martínez, G.A. 1994. Experimentación Agrícola. Métodos Estadísticos. Universidad Autónoma Chapingo, México. 357 p.
- Martínez, S. J.; A. Peña L. y D. Montalvo H. 2004. Producción y Tecnología de Semilla de Tomate de Cáscara. Universidad Autónoma Chapingo, México. 36 p.
- Mink, G.I. 1993. Pollen and Seed Transmitted Virus and Viroids. Ann. Rev. of Phytopathol. 31: 375-402.
- Mora, P.C. 1977. Estudio de la Virosis del Chile Serrano (*Capsicum annuum*) Como Base Para Estructurar un Programa de Obtención de Variedades Resistentes. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. 89 p.
- Morales, B.G. 2003. Nuevos Chiles y Tomates de Seminis en Yurecaro, Michoacán. Hortalizas, Frutas y Flores. Agrosíntesis, S.A. de C.V. México. D.F. 29-34.
- Moreno, M.E. 1984. Análisis Físico y Biológico de Semillas Agrícolas. Edit. UNAM, México, D.F. 383 p.
- Moreno, M.E.; Vázquez, B. M.E.; Rivera, A.; Navarrete, R. y Esquivel, V.F. 1998. Effect of Seed Shape and Size on Germination of Corn (*Zea mays* L.) Stored Under Adverse Conditions. Seed Sci. and Technol. 26:43-448.
- Pandey, K. K. 1957. Genetics of Self Incompatibility; *Physalis ixocarpa* Brot. A New System. Amer. J. Bot. 44: 879-887.
- Peña, L. A.; F. Ramírez P.; R. A. Cruz G. 1991. Edad al Trasplante de Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en Chapingo, México. Rev. Chapingo 73: 57-60.
- Pérez, C. I.; V. A. González H.; J. C. Molina M.; O. J. Ayala G y A. Peña L. 2008. Efecto de Desarrollo y Secado de Semillas de *Physalis ixocarpa* Brot., en Germinación, Vigor y Contenido de Azúcares. Interc. 33(10): 762-766.
- Pesic, Z. and Hiruki, C. 1986. Differences in the Incidence of Alfalfa mosaic virus in Seed Coat and Embryo of Alfalfa Seed. Can. J. of Plant Pathol. 8: 39-42.
- Prior, C.M.L. 1989. La Miel en la Alimentación Humana. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid, España. 45 p.
- PRODUCE. 2005. Memoria: Jornada de Tecnología de Producción de Tomatillo. Fundación PRODUCE, Sinaloa A. C. Culiacán, Sinaloa, México. 72 p.
- Ramírez, C. R. N. 2007. Diagnóstico Fitosanitario del Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en el Altiplano Poblano. Tesis de Maestría. Postgrado de Fitosanidad, Entomología y Acarología. Montecillo, Texcoco, México. 41 p.
- Rodríguez, M. R. 1971. Estudio Preliminar Sobre el Mosaico del Chile en la Región del Bajío. Tesis. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. 51 p.
- Rodríguez, M.N. 1997. Fertilización Foliar en el Cultivo de Tomate en Condiciones de Invernadero. Tesis Doctoral, Edafología. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 65 p.
- Rebolledo, R. H.H. 1998. SAS en Microcomputadora: Análisis Estadístico de Datos Experimentales. Departamento de Suelos. Universidad Autónoma Chapingo. 148 p.

- Sainz, R. A., y Ramírez, V.J. 1991. Principales Enfermedades del Cultivo de Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa*) en Yurécuaro y Tanhuato, Michoacán. XVIII Congreso Nacional de Fitopatología. Puebla. 45 p.
- Saray, M. C. R. y J. L. Loya. 1977. El Cultivo del Tomate Cáscara en el Estado de Morelos. SARH, INIA, CIAMEC, CAEZACA. México. Pp. 3-11.
- SAS Institute. 2002. User's Guide of SAS (Statistical Analysis System). SAS Institute Inc. Cary, N.C. United States of America. 550 p.
- Sawan, M.Z.; Gregg, R.B., and Yousef, E.S. 1999. Effect of Phosphorus, Chelated Zinc and Calcium on Cotton Seed Yield, Viability and Seedling Vigor. *Seed Sci. and Technol.* 27:329-337.
- Steiner, A.A. 1984. The Universal Nutrient Solution. Sixth International Congress on Soilless Culture Luntern. International Society for Soilless Culture. ISOSC. Netherlands. Pp. 633-650.
- Šutić, D.D.; R.E. Ford and M.T. Tošić. 1999. Handbook of Plant Viruses Diseases. Edit. CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, United States of America. 553 p.
- Sutula, C. L.; J. M. Gillett.; S. M. Morrissey, and D. C. Ramsdell. (1986). Interpreting ELISA Data and Establishing the Positive-Negative Threshold. *The Amer. Phytopathol. Soc.* 70(8): 722-726.
- Urias, C.M.; R. Rodríguez M. y T. Alejandro A. 1992. Áfidos como Vectores de Virus en México. Identificación de Áfidos de Importancia Agrícola. Centro de Fitopatología. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 163 p.
- Villegas, T. O. G.; M. N. Rodríguez M.; L. I. Trejo T. y G. Alcántar G. 2001. Potencial de la Miel de Abeja en la Nutrición de Plántulas de Tomate. *Terra Latin.* 19 (001): 97-102.
- Zadjali, A. D.; A. R. Matrooshi, and S. M. Moghal. 2002. Occurrence, Distribution and Properties of Alfalfa mosaic virus. *Agric. Sci.* 71: 47-51.

## CONCLUSIONES GENERALES

De acuerdo con los resultados obtenidos se aceptan las hipótesis planteadas que indican que el *Alfalfa mosaic alfamovirus* (virus mosaico de la alfalfa, AMV) se transmite por semilla en tomate de cáscara; además de que el manejo de insectos vectores y del cultivo permite obtener semilla de tomate de cáscara con calidad genética, física, fisiológica y sanitaria libre de virus.

El *Alfalfa mosaic alfamovirus* (AMV) se transmitió por semilla en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot) en porcentajes que van del 25 al 94 %.

El *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) se transmite por semilla en tomate de cáscara en porcentajes que van del 25 al 86 %.

Se reporta por primera vez la transmisión por semilla del *Tobacco etch potyvirus* (TEV) en tomate de cáscara en un porcentaje del 10 al 39 %.

Se detectó la transmisión de los virus AMV, CMV y TEV, en semilla de plantas asintomáticas de tomate de cáscara en los siguientes porcentajes: 25, 79.75 y 10 %, respectivamente.

De los virus transmitidos por semilla, se encontró con mayor frecuencia el *Alfalfa mosaic alfamovirus* (virus mosaico de la alfalfa, AMV)

Con el manejo biorracional de plagas, se presentó el menor número de áfidos en las plantas de tomate de cáscara durante el proceso de producción de semilla conducido en campo abierto; sin embargo, no se evitó la presencia de virus en la semilla producida, ya que se detectó la presencia de AMV, CMV y TEV, con un 36.25, 31.50 y 25 % respectivamente.

En el área confinada, se evitó la presencia de áfidos y otras plagas en las plantas de tomate de cáscara, durante el proceso de producción de semilla conducido en invernadero.

La producción de semilla en el área confinada dentro del invernadero, generó la mejor calidad física y fisiológica de semillas; seguida de aquella cosechada del manejo biorracional de plagas; y del manejo convencional más aplicaciones de miel al 2 %, desarrollados a campo abierto.

Mediante el manejo de plagas convencional más miel; así como manejo de plagas biorracional, se obtuvieron los menores porcentajes de transmisión por semilla de los virus *Alfalfa mosaic virus* (AMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV) y *Tobacco etch virus* (TEV), en el proceso de producción de semilla conducido en campo abierto.

La producción en el área confinada libre de insectos vectores, permitió obtener semilla libre de los virus *Alfalfa mosaic alfamovirus* (AMV), *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) y *Tobacco etch poityvirus* (TEV). Este resultado se debe a que se modificó la forma de producir, ya que de manera general las semillas se siembran en charolas de poliestireno de 200 cavidades depositando de 2 a 3 para garantizar una adecuada emergencia; sin embargo, basta que una sola semilla esté infectada con virus, para que se presente la transmisión mecánica durante la germinación y contacto entre ellas, aunado a que la polinización entomófila y a la presencia de insectos vectores, como los áfidos que son muy eficientes en la transmisión de estos fitopatógenos, no es posible producir semilla libre de virus.

Por lo anterior, en esta investigación, se utilizaron vasos de unicel distribuidos a 10 cm de distancia entre ellos y sólo se colocó una semilla, de tal forma que no hubo contacto entre plántulas, con lo cual se evitó la transmisión mecánica y se lograron aislar plantas libres de virus, que al mantenerlas confinadas en un área libre de insectos vectores y mediante polinización manual, ya que hay autoincompatibilidad gametofítica en esta especie, se logró el objetivo de producir semilla libre de virus.

El mayor porcentaje de germinación se logró en la semilla libre de virus producida en el invernadero, así como en la obtenida del manejo biorracional y biorracional más miel como posible inductor de resistencia sistémica.

En general la producción de semilla libre de virus en el área confinada dentro del invernadero, generó la mejor calidad física, fisiológica y sanitaria; seguida de aquella obtenida mediante el manejo biorracional de plagas; y del manejo convencional más aplicaciones de miel al 2 %, desarrollados a campo abierto.