



Identificación, rango de hospedantes y estrategias de manejo del virus de la necrosis apical de tomate (ToANV) en los cultivos de tomate y tomatillo en el norte de Sinaloa.

Participantes:

¹**Francisco Javier Orduño-Cota.**-Gerente general.

¹ y ² **Rubén Félix-Gastélum.**-Asesor del laboratorio de diagnóstico fitosanitario y profesor investigador de la Universidad de Occidente.

¹ **Gabriel Herrera-Rodríguez.**-Responsable del laboratorio de diagnóstico fitosanitario y coordinador del proyecto.

³ **Zhongguo Xiong.**-Profesor investigador de la Universidad de Arizona.

¹**Diana Fernanda Espinoza-Castillo.**-Responsable técnico del laboratorio de diagnóstico fitosanitario.

¹**Yunuen Rochín-Zepeda.**-Responsable técnico del laboratorio de diagnóstico fitosanitario.

¹**Miguel Ángel Montiel-García.**-Coordinador técnico.

¹ **Carlos Alberto Gálvez-Figueroa.**-Profesional Fitosanitario.-Z.F. No.1

¹ **César Román Espinoza-Navarro.**-Profesional Fitosanitario.-Z.F. No.2

¹ **Francisco Javier Orduño-Espinoza.**-Profesional Fitosanitario.-Z.F. No.3

¹ **Federico Palazuelos-Ungson.**-Profesional Fitosanitario.-Z.F. No.4

¹ **Ismael López-Álvarez.**-Profesional Fitosanitario.-Z.F. No.5

¹ **José Antonio Gastélum-López.**-Profesional Fitosanitario.-Z.F. No.6

¹ **Jesús Enrique López-Verduzco.**-Profesional Fitosanitario.-Z.F. No.7

¹ **José David Escalante-Arredondo.**-Profesional Fitosanitario.-Z.F. No.8

² **Rosa María Longoria-Espinoza.**-Profesor investigador de la Universidad de Occidente.

¹ Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Fuerte.- Lázaro Cárdenas Pte. 315, Colonia Centro, CP 81200. Los Mochis, Sinaloa, México

² Universidad de Occidente, Unidad Los Mochis, Dpto. de Ciencias Biológicas, Blvd. Macario Gaxiola y Carretera Internacional s/n, CP 81223. Los Mochis, Sinaloa, México.

³ University of Arizona, School of Plant Sciences, BIO5 Institute Division of Plant Pathology & Microbiology, Forbes 303, P.O. box 210036, Tucson, AZ.

CONTENIDO	II
ÍNDICE DE CUADROS	IV
ÍNDICE DE FIGURAS	V
RESUMEN	VI
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
III JUSTIFICACIÓN	4
IV. OBJETIVOS	5
4.1. Objetivo general	5
4.2. Objetivos específicos	5
V. MATERIALES Y METODOS	6
5.1. Colecta de muestras para la identificación del virus causante la necrosis apical del tomate (ToANV)	6
5.1.1. Identificación mediante serología	6
5.1.2. Identificación mediante técnicas moleculares	7
5.2. Incidencia de ToANV en tomate y tomatillo en el norte de Sinaloa	8
5.3. Rango de hospedantes y distribución del virus de la necrosis apical del tomate	9
5.4. Transmisión del ToANV a plantas cultivadas y plantas silvestre con mosca blanca	9
5.5. Fluctuación poblacional de mosca blanca en el Valle del Fuerte y su relación con la necrosis apical del tomate y el amarillamiento del tomatillo	11
5.6. Resistencia en híbridos de tomate al ToANV	12
5.7. Manejo del tomatillo mediante el rego presurizado y su efecto en la incidencia y severidad del ToANV	13

VI. RESULTADOS	14
6.1. Identificación del virus causante de la necrosis apical del tomate	14
6.2. Incidencia de ToANV en tomate y tomatillo en el norte de Sinaloa	15
6.3. Rango de hospedantes y distribución del virus de la necrosis apical del tomate	19
6.4. Transmisión del ToANV a plantas cultivadas y plantas silvestre con mosca blanca	21
6.5. Fluctuación poblacional de mosca blanca en el Valle del Fuerte y su relación con la necrosis apical del tomate y el amarillamiento del tomatillo	22
6.6. Resistencia en híbridos de tomate al ToANV	24
6.7. Manejo del tomatillo mediante el rego presurizado y su efecto en la incidencia y severidad del ToANV	25
VII. DISCUSIÓN	27
VIII. CONCLUSIONES	29
IX. LITERATURA CITADA	30

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Descripción	Pág.
1	Incidencia de ToANV en híbridos de tomate en el norte de Sinaloa durante los ciclos agrícolas 2011-2012 y 2012-2013	16
2	Incidencia de ToANV en variedades de tomatillo en el norte de Sinaloa durante el ciclo agrícola 2012-2013 y 2012-2013	19
3	Detección de ToANV en plantas silvestres y cultivables	19
4	Trasmisión de ToANV a plantas solanáceas mediante <i>Bemisia tabaci</i>	23
5	Efecto del sistema de riego presurizado en el manejo del ToANV en tomatillo en el norte de Sinaloa	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Pág.
1	ToANV en tomate y tomatillo	2
2	Detección de ToANV mediante serología utilizando inmunitiras	6
3	Adultos y colonia de <i>Bemisia tabaci</i> sobre plantas de tomatillo	10
4	Colocación de trampas amarillas para el monitorio de mosca blanca	11
5	Evaluación de la incidencia de ToANV en híbridos de tomate APTX-271	12
6	Amplificación del ARN 1 de ToANV	14
7	Árbol filogenético basado en secuencias del RNA 1 del grupo de los torradovirus	15
8	Distribución e indecencia ToANV en lotes comerciales de tomate en el norte de Sinaloa	17
9	Distribución e indecencia ToANV en lotes comerciales de tomatillo en el norte de Sinaloa	18
10	Distribución de ToANV en el norte de Sinaloa en los ciclos agrícolas 2011-2012 y 2012-2013	21
11	Fotografía de parte posterior de la pupa de <i>Bemisia tabaci</i> , transmisora del ToANV	22
12	Fluctuación poblacional de mosca blanca en la zona fitosanitaria concheros-9 de Diciembre	24
13	Evaluación de resistencia de híbridos de tomate al virus de la necrosis apical del tomate en el norte de Sinaloa	25
14	Predios de tomatillo var. Querétaro con diferentes sistemas de riego	26

RESUMEN.

En ciclos agrícolas recientes, los daños por enfermedades de tipo viral, en particular los causados por el virus de la necrosis apical del tomate (ToANV) han reducido la producción y calidad de estos cultivos hasta en un 100% en algunos lotes comerciales de estas hortalizas.

El virus fue reportado por primera vez en 2007 en tomate en el estado de Sinaloa y se le denominó virus de la necrosis apical del tomate por los síntomas expresados en las plantas enfermas.

Estudios desarrollados por los autores del presente trabajo demostraron que el mismo virus ataca al tomatillo en el norte de Sinaloa, donde la enfermedad ha causado pérdidas totales en tomate y tomatillo. Es importante recalcar que los técnicos de campo han adjudicado este problema fitosanitario al hongo *Fusarium*, lo cual ha conducido a la aplicación de estrategias inadecuadas para el manejo de la enfermedad. Esta confusión se debió a que no existían estudios sustentados en el método científico sobre la identificación del agente causal. En este sentido, y en colaboración con la Universidad de Arizona se ha identificado al virus de la necrosis apical del tomate como agente causal de la enfermedad en tomate y tomatillo; en el primer cultivo se presentan los síntomas de necrosis apical y en el segundo ocurre un amarillamiento que reduce el ciclo del cultivo y limita su producción en una manera marcada.

En general, la incidencia y severidad del ToANV en tomate y tomatillo disminuyó en el ciclo agrícola 2012-2013 con respecto al ciclo 2011-2012. Esto se debe a las estrategias de manejo emprendidas por los productores con base en resultados de investigación generados por este grupo de trabajo en el ciclo 2011-2012; estas acciones incluyen: a) La utilización de los híbridos DRD-8551 (Tisey) DRD-8564 y Cuauhtémoc los cuales muestran resistencia de campo al ToANV, es importante resaltar que dichas variedades también presentan alta resistencia a Begomovirus (Geminivirus) y b) la incorporación del riego presurizado y acolchado en el manejo del cultivo de tomatillo, lo cual de manera colateral ha jugado un papel importante en el control del ToANV. Estos dos esquemas de manejo

son de suma importancia ya que el primero no involucra el uso de insecticidas para el control de la enfermedad. En el caso del tomatillo, aun cuando no existen variedades resistentes al virus, el sistema de riego presurizado permite la aplicación de insecticidas sistémicos los cuales se translocan en la planta y ejercen un control eficiente de la mosca blanca que actúa como agente transmisor del virus.

Con respecto al rango de hospedantes del virus, se encontró que de las especies incluidas en 10 familias botánicas, sólo los miembros de las familias Solanaceae resultaron susceptibles al ToANV en el norte de Sinaloa. Este es el primer estudio a nivel mundial en el cual se registran como hospedantes naturales al tomatillo comercial, tomatillo silvestre, tabaco silvestre, chiquelite y toloache. Este hallazgo es importante, pues la eliminación de las plantas silvestres de la familia Solanaceae en la cercanía de los predios de tomate y tomatillo contribuirá a la disminución de riesgo de incidencia del virus en estos cultivos.

Además del descubrimiento de nuevos hospedantes naturales del ToANV en el norte de Sinaloa, se determinó, por primera vez a nivel mundial, que dicho virus se transmite de tomatillo a tomate (*Solanum lycopersicum*), tomatillo comercial (*Physalis ixocarpa*), tomatillo silvestre (*Physalis* sp.), chiquelite (*Solanum nigrum*), Tabaco silvestre (*Nicotiana glauca*) y toloache (*Datura metel*) mediante mosca blanca (*Bemisia tabaci*). Se determinó además que el insecto requieren al menos 24 horas para la adquisición y transmisión del virus; esto es importante en la implementación de estrategias del manejo de la enfermedad, ya que los insecticidas sistémicos, principalmente aquellos que se aplican en riegos presurizados, muestran una mayor eficacia en el manejo del ToANV, por la forma persistente en la que el virus se transmite por el vector.

Con respecto a la fluctuación poblacional de *Bemisia tabaci*, insecto vector del ToANV en el norte de Sinaloa, se observó que las mayores poblaciones se presentan durante los meses, enero-mayo lo cual coincide con altas incidencias del virus en tomate y tomatillo, sin embargo, altas incidencia de la enfermedad se han registrado en septiembre-diciembre, cuando ocurren poblaciones bajas del vector; esto indica que el vector es altamente eficiente en la transmisión del virus, lo cual se ha demostrado en el presente estudio. Es importante recalcar que *Bemisia tabaci* ha sido consignada como vector de virus de los

grupos criniviruses, ipomoviruses, carlaviruses, begomovirus y torradoviruses; como resultado de la presente investigación se confirma una vez más la eficiencia de este insecto como vector del ToANV en hospedantes no reportados en otras partes del mundo.

Con base a las recomendaciones derivadas del presente estudio, los productores de tomatillo en la área de influencia de la Junta Local del Valle del Fuerte han reducido la incidencia del ToANV de 1-10% en lotes de tomatillo manejados con riego presurizado, en contraste con los predios convencional (rodado) donde la incidencia alcanza hasta el 100% y, muchos de estos lotes son destruidos por los mismos productores para someter los terrenos a resiembras. Esta estrategia de manejo tiende a generalizarse en el Valle debido a que no existen variedades tomatillo con resistencia de campo y este sistema de riego permite optimizar el uso de insecticidas en el control del insecto vector.

La integración del conocimiento sobre la identidad del virus, sus formas de transmisión en campo y los hallazgos sobre resistencia varietal en tomate al ToANV han reducido las pérdidas por este patógeno en este cultivo en el norte de Sinaloa. Así mismo, aun cuando en tomatillo no existen variedades con resistencia de campo al virus, el manejo del mismo mediante riego presurizado representa una alternativa viable para el manejo de la enfermedad mediante el control del insecto vector a través del uso de insecticidas en este sistema de riego. Prueba de ello son las 50 ton/ha que se han obtenido en sistemas de riego presurizado en contraste con 5 a 7 ton/ha que se obtienen en los lotes con riego rodado.

Finalmente, con base en los resultados del presente trabajo, la Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Fuerte ha autorizado permisos de siembra únicamente para las variedades de tomate resistentes al ToANV. Adicionalmente, el mismo organismo está recomendando la utilización de riego presurizado en siembras de tomatillo, pues este sistema de riego presenta bondades en el manejo del ToANV, a través del uso eficiente de los insecticidas en el control de la mosca blanca como vector.

I. INTRODUCCIÓN.

La producción y calidad de estos cultivos son afectadas por hongos, bacterias y virus. Dentro de los hongos destacan: el tizón temprano (*Alternaria solani*), la cenicilla (*Oidiopsis taurica*) (León Gallegos, 1988) y el tizón tardío (*Phytophthora infestans*). Las enfermedades bacteriana más importantes son: la mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria*) (Bouzar *et al.*, 1996), la necrosis medular (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*), el necrosis de la medula (*Pseudomonas corrugata*) y la peca bacteriana (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*). En el grupo de virus se describen al virus del mosaico del pepino (CMV), virus Y de la papa (PVY), Virus del mosaico del tabaco (TMV), virus del jaspeado del tomate (TEV), virus de la (TYLCV), virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV), virus de la necrosis apical del tomate (ToANV), entre otros (Turina *et al.*, 2007).

El ToANV fue reportado por primera vez en tomate en el estado de Sinaloa por Massimo Turina del Instituto de Virología Vegetal de Turin Italia, quien colectó plantas con síntomas severos de necrosis en tallos y hojas; dichos síntomas eran síntomas clásicos del virus TSWV pero al purificar la partícula viral de las muestras y secuenciar el genoma de este virus se encontró que pertenece a una nueva especie de virus, al cual nombró por los síntomas en las plantas sintomáticas (figura1) “virus de la necrosis apical del tomate” (Turina *et al.*, 2007).

Observaciones en esta región indican los daños del ToANV son mas marcados cuando la infección ocurren en las etapas fenológicas iniciales del tomate y tomatillo. En el primero ocurre necrosis apical de las plantas, deteniéndose su desarrollo y fructificación. Cuando se producen algunos frutos estos muestran anillos necróticos y carecen de valor en el mercado. En tomatillo los síntomas también ocurren en etapas iniciales del desarrollo de la plantas; aun cuando la mayoría de las variedades de tomatillo no presentan necrosis apical se presenta un amarillamiento severo y enanismos, lo cual es más evidente después del primer riego de auxilio. A demás, dichas plantas se convierten en un foco de infección para otras plantas sanas que se encuentran en el cultivo y predios vecinos.



Figura 1. ToANV en tomate y tomatillo. A) Plantación de tomate dañada con ToANV, B) tomate con necrosis apical, C) plantación de tomatillo con amarillamiento y D) tomatillo con amarillamiento intervenal.

Aun cuando en la región norte de Sinaloa tanto en tomate y tomatillo se han observado síntomas similares a los consignados para el ToANV, a la fecha no se han realizado estudios relativos a la diversidad genética del virus así como, estudios que involucran al potencial vector. En el presente estudio se abordan estos temas con el propósito de entender la biología y ecología del virus en cuestión y se proponen estrategias para el manejo de la enfermedad en el mediano plazo.

II. ANTECEDENTES.

El cultivo de tomate se ve afectado por enfermedades de origen fungoso, bacterial y viral en el norte de Sinaloa; dentro de estas últimas resalta el virus del chino del tomate el cual causo grandes pérdidas en los ciclos agrícolas de 1970-1971, 1979-1980 y 1987-1988, ciclo en los que afectó a la mayoría de los cultivos de tomate y redujo la producción hasta en un 30% (Ley y Sánchez, 1991). El virus del mosaico del tabaco se encuentra ampliamente distribuido en todas las áreas productoras de tomate en el norte de Sinaloa; fue reportado desde 1974 en el sur de Tamaulipas, El Bajío y el estado de Sinaloa. La enfermedad puede presentarse desde el trasplante, donde el daño es drástico; si la enfermedad se presenta cuando la planta está en desarrollo el daño es leve (Delgado, 1974).

El virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV) también causó daños considerables en 1990. Esta enfermedad se ha presentado en regiones tropicales y subtropicales del mundo, entre ellas: África y distintas Islas del Océano Pacífico (Holmes, 1958). En Sinaloa, la enfermedad es conocida desde hace 20 años, presentándose en distintos cultivares de tomate y chile, pudiendo causar más del 50% de pérdidas en los rendimientos del tomate y chile. En tomate Saladette, el virus causa hasta 100% de daño, como ocurrió en el ciclo agrícola 1987-1988 (Ramírez y Ley, 1991).

En relación al virus de la necrosis apical del tomate, enfermedad que se aborda en el presente trabajo, se consignó por primera vez en el noroeste de México por Turina en el 2007. Este investigador determinó que la enfermedad es causada por un virus del grupo de los picornavirus y se le denominó virus de la necrosis apical del tomate (ToANV); el mismo autor determinó que mediante transmisión mecánica este virus puede infectar a: *Datura stramonium*, *Nicotiana benthamiana*, *N. clevelandii*, *N. megalosiphon*, *N. glutinosa*, *N. tabacum* (cv. White Burley), *Solanum lycopersicum*, (cv. Marmande), *Capsicum annuum*, (cv. Quadrato D'Asti), *Solanum nigrum* y *Catharanthus roseus* (Turina et al., 2007); sin embargo actualmente se desconoce la diversidad genética del virus así como, las potenciales plantas especies de plantas que pueden actuar como reservorios de inóculo del virus y el papel de la mosca blanca *Bemisia* sp. como posible vector de la enfermedad.

III. JUSTIFICACIÓN.

La necrosis apical del tomate es considerada como una de las enfermedades más importantes que afectan al cultivo en México. En el norte de Sinaloa, en ciclos agrícolas recientes se ha presentado esta enfermedad en diferentes cultivares de tomate y tomatillo. Por la superficie de siembra y el valor de la producción, el cultivo de tomate y tomatillo están consideradas como una de las principales hortalizas en el norte de Sinaloa. En el ciclo agrícola 2011-2012, el ToANV presentó incidencia de hasta en un 100% en cultivares de tomate y tomatillo, por lo que algunos agricultores destruyeron sus cultivos. Por lo anterior, se desarrolló el presente proyecto de investigación en el cual se muestran algunos aspectos ecológicos y epidemiológicos del virus de la necrosis apical del tomate en el norte de Sinaloa; en este sentido, se llevó a cabo el estudio sobre la diversidad genética del ToANV , el rango de hospedantes del virus y su transmisión mediante mosca blanca (*Bemisia tabaci*). El presente estudio permitirá la implementación de estrategias para el manejo de la enfermedad en campo.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general.

Identificar el virus causante de la necrosis apical del tomate, determinar su rango de hospedantes y proponer estrategias para el manejo de la enfermedad en tomate y tomatillo en el norte de Sinaloa.

4.2. Objetivos específicos.

Identificar el virus causante de la necrosis apical del tomate (ToANV) mediante el uso de pruebas serológicas, RT-PCR y secuenciación de los productos amplificados.

Determinar la incidencia del ToANV en tomate y tomatillo en el norte de Sinaloa.

Determinar la fluctuación poblacional de mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en el Valle del Fuerte y su relación con la incidencia necrosis apical del tomate y el amarillamiento del tomatillo en el norte de Sinaloa.

Informar sobre la existencia de híbridos de tomate tolerantes al virus de la necrosis apical del tomate en el norte de Sinaloa

Determinar el efecto del manejo de tomatillo bajo riego presurizado y su relación con la incidencia y severidad del ToANV.

V. MATERIALES Y MÉTODOS.

5.1. Colecta de muestras para la identificación del virus causante la necrosis apical del tomate (ToANV)

Muestras de tomate con necrosis apical, tomatillo con amarillamiento foliar y malezas con síntomas de moteados, mosaicos, malformación y amarillamiento, se colectaron en lotes comerciales, caminos y así como en bordos de drenes y canales de riego. Las muestras se colocaron en una bolsa de polietileno; enseguida se depositaron en una hielera para trasladarse al laboratorio para su procesamiento. Los muestreos se realizaron en los municipios de Ahorme, El Fuerte y Guasave, durante los ciclos agrícolas 2011-2012 y 2012-2013.

5.1.1. Identificación mediante serología.

Las muestras antes descritas se procesaron en campo para la detección de ToANV mediante la prueba serológica QuickStix Kit for Tomato Apex Necrosis Virus (Portland, EU EnviroLogy) como se describe a continuación.

Del tejido sintomático se tomaron dos discos de 1.0 cm de diámetro, se colocaron un tubo eppendorf y se maceraron con un pistilo; enseguida se añadieron 13 gotas del buffer de extracción y por último al tubo se le introdujo una inmuntira durante 10 minutos hasta observar las dos bandas que significa que la muestra es positiva para ToANV (figura 2).



Figura 2. Detección de ToANV mediante serología utilizando inmuntiras.

5.1.2. Identificación mediante técnicas moleculares.

Extracción de ARN de tejido foliar total.

La extracción del ARN genómico se realizó utilizando el kit TRIZOL Reagent (Invitrogene®), para la extracción se tomaron aproximadamente 20 mg del tejido sintomático y se maceró con 500 µl de Trizol Reagent. La muestra se incubó 10 minutos sobre hielo, posteriormente se adicionó 0.1 ml de cloroformo y se agitó vigorosamente durante 15 segundos. Los tubos se centrifugaron a 13000rpm durante 10 minutos a 4°C y se recuperaron 0.2 ml de la fase acuosa (superior), la cual se depositó en otro tubo previamente marcado. Al tubo se le añadió 0.2 ml de isopropanol e incubó durante 10 min a -20°C. La muestra se centrifugó a 13,000rpm durante 10 minutos a 4°C y decantó el sobrenadante. El pellet se lavó con 0.5 ml. de etanol al 70%, después se centrifugó a 13,000rpm durante 5 minutos a 4°C y decantó el sobrenadante. El pellet se secó a temperatura ambiente durante 10 a 15 min. Por último, el pellet se disolvió en 30µl agua estéril libre de nucleasas.

Los ARN de las diferentes muestras se enviaron a la universidad de Tucson donde se procesaron por las técnicas de RT-PCR y los aislamientos amplificados se secuenciaron para la identificación del ToANV.

Amplificación del ARN viral mediante la técnica de RT- PCR en un solo paso

Amplificación del ARN.

La mezcla de la reacción para RT- PCR consistió en mezclar 5µl de buffer para RT-PCR 5X, 0.8 µL de MgSO₄, 0.2 µL de la mezcla de dNTP, 0.25 microlitros SuperscriptIII TAQ polimerase y 0.2 µL de cada primer (TANV1F2345 y TANV1R3178 para RNA I) y 0.5 µl de ARN, en un volumen total de 10 µl. La amplificación fue realizada usando un termociclador MyCycler Thermal Cycler (Biorad, México). Las condiciones consistieron de un ciclo de síntesis del cDNA a 60°C por 20 min, un ciclo de desnaturalización inicial a 94°C por 2 min, seguido por 35 repeticiones de un ciclo de desnaturalización a 94°C por 15 seg, un ciclo de anillamiento a 52°C por 30 s y un ciclo de elongación a 68°C por 50 s. Los amplicones fueron visualizados por electroforesis en un gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio.

Secuenciación de los productos de PCR.

Los productos de PCR se purificaron utilizando el kit Qiaquick PCR Purification Kit (Qiagen, EUA, Cat. No. 28106). El ADN se cuantificó empleando un lector multimodal para placas de 96 pozos (DTX-880, Beckman) por fluorometría siguiendo las recomendaciones del proveedor del Quant-It™ dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen, EUA, Cat. No. Q32854). Las muestras de ADN amplificado se secaron en una placa de calentamiento a 45°C y se enviaron a secuenciar de manera bidireccional en la Universidad de Tucson, para su secuenciación empleando un equipo ABI Prism 3100.

Análisis de las secuencias.

Una vez obtenidas las secuencias, se realizó una comparación en la base de datos del GenBank y se construyó un árbol filogenético con las secuencias obtenidas. La búsqueda de similitud de secuencias se llevó a cabo en el servidor del National Center for Biotechnology Information (NCBI: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) utilizando BLAST-N. El alineamiento múltiple de secuencias nucleotídicas se ejecutó con el software MEGA 5 (Tamura *et al.*, 2011) utilizando el software MUSCLE (Edgar, 2004). La selección de modelos de sustitución se desarrolló con el software jModelTest (Posada, 2008) utilizando el criterio de información de Akaike (AIC). El árbol filogenético se generó por neighbor joining (NJ) utilizando el modelo de sustitución de parámetros Kimura 2 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001). Los gaps fueron tratados como datos faltantes y la robustez se evaluó con 1000 réplicas bootstrap.

5.2. Incidencia de ToANV en tomate y tomatillo en el norte de Sinaloa.

Para determinar la distribución e incidencia del ToANV se evaluaron 54 lotes comerciales de tomate y 67 lotes comerciales de tomatillo en el norte de Sinaloa durante los ciclos agrícola 2011-2012 y 2012-2013. En cada lote comercial se cuantificó el número de plantas de tomate con necrosis apical y en el caso de tomatillo se cuantificaron las plantas con síntomas de amarillamiento. En cada lote se establecieron cuatro transeptos, en cada uno se evaluaron 100 plantas, evaluándose un total de 400 plantas por lote. Posteriormente, se seleccionaron y colectaron 10 brotes apicales de 20 a 30 cm de tomate con necrosis apical o tomatillo con amarillamiento foliar. Las muestras se colocaron en bolsas de polietileno, se etiquetaron con los datos (Agricultor, lugar de colecta, variedad, fecha de siembra, fecha de

colectar, etapa fenología, sistema de riego, la geo-posición del lote e incidencia de ToANV) y se trasladaron al laboratorio en recipientes con hielo para su análisis inmediato.

5.3. Rango de hospedantes y distribución del virus de la necrosis apical del tomate.

Para determinar el rango de hospedantes de ToANV, se cortó la parte apical de 154 malezas con moteados, mosaicos, amarillamiento, malformación de 81 puntos, los cuales se encontraban en las orillas de caminos vecinales, bordos de canales, drenes y lotes de hortalizas en el norte de Sinaloa durante el ciclo agrícola 2011-2012 y 2012-2013. Las muestras se colocaron en bolsas de polietileno, se etiquetaron (nombre común, fecha de colecta, geoposición del sitio de colecta) y se trasladaron al laboratorio en recipientes con hielo para su análisis inmediato.

5.4. Transmisión del ToANV a plantas cultivadas y plantas silvestre con mosca blanca.

Un aislamiento de ToANV proveniente de una planta de tomatillo variedad Querétaro con síntomas de amarillamiento se transmitió mecánicamente a 5 plantas de tomatillo en etapa fenológica de primera hoja verdadera. Un mismo número de plantas se utilizaron como testigo negativo. La presencia del ToANV en la plantas de tomatillo se confirmó mediante el uso de RT-PCR.

La colonia de mosca blanca se estableció a partir de pupas presentes en hojas de calabaza Kabocha (*Cucurbita moschata*) Duch. ex. Las pupas de mosca blanca se colocaron sobre una planta de calabaza cabocha sana. Las plantas acompañadas de las ninfas se confinaron en jaulas de 1.40 x 0.60 m con tela de 100% polipropileno (agribon[®]); las poblaciones del insecto fueron abundantes después de 20 días del establecimiento de la colonia. Para demostrar que las mosca blancas no eran portadores de virus que infectan tomate y tomatillo, cinco grupos de diez ejemplares se transfirieron a plántulas de tomate variedad APTX-271 en la etapa fenológica de primer hoja verdadera, dichas plantas se inspeccionaron a los 15 días después de la transferencia de los insectos para determinar la presencia de posibles síntomas de origen viral y se determinó la ausencia de virus mediante pruebas serológicas. La identificación de las especie de mosca blanca se realizó utilizando pupas mediante pruebas taxonómica (Martin 1987).

Cinco adultos de mosca blanca se transfirieron mediante un succionador bucal a una planta de tomatillo infectada (figura 3) con ToANV. Al insecto se le permitió un período de adquisición del virus de 24 hrs. Posteriormente las moscas blancas se transfirieron en forma separada a diez plántulas sanas de cada una de las siguientes malezas: mala mujer (*Solanum rostratum*), toloache (*Datura* sp), tabaco silvestre (*Nicotiana glauca*) y chiquelite (*Solanum nigrum*); en la etapa de la primera hoja verdadera donde permanecieron en un período de transmisión durante 72 horas en una jaula de tela 100% polipropileno (agribon®).



Figura 3. adultos y colonia de *Bemisia tabaci* sobre plantas de tomatillo

Una vez transcurrido el período de transmisión, las moscas blancas se eliminaron mediante la aplicación de insecticida Raid Casa y Jardín. Las plantas sometidas a transmisión se colocaron en jaulas de agribón y se observaron cada tercer día durante 21 días para determinar la presencia de síntomas de ToANV. Una vez que se presentaron los síntomas, el tejido sintomático se sometió a procedimiento de pruebas serológicas y RT-PCR, para confirmar la presencia del virus inoculado por las moscas.

5.5. Fluctuación poblacional de mosca blanca en el Valle del Fuerte y su relación con la necrosis apical del tomate y el amarillamiento del tomatillo.

Para determinar la dinámica poblacional de la mosca blanca se seleccionó una zona fitosanitaria de las diez establecidas en la zona de influencia de la Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Fuerte; históricamente estas zonas han presentado la mayor incidencia de mosca blanca en el Valle.

En dicha zona se establecieron cinco puntos de muestreo donde semanalmente se colocaron trampas amarillas con pegamento a una altura de 50 cm (figura 4), durante 24 horas. Posteriormente las trampas se llevaron al laboratorio de entomología de la Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Fuerte, donde se calculó el promedio del número de adultos de mosca blanca por pulgada cuadrada en cada una de las trampas en períodos quincenales .



Figura 4. Colocación de trampas amarillas para el monitorio de mosca blanca.

5.6. Resistencia en híbridos de tomate al ToANV.

Para determinar la resistencia de los híbridos de tomate se evaluaron 1 predio de los híbridos Esmeralda, DRD8564, Brigade, Primus y Cuauhtémoc, 6 predios con los híbridos APTX-271 y DRD-8551 en la zona de influencia de la Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Fuerte durante los ciclos agrícolas 2011-2012 y 2012-2013. Las evaluaciones consistieron en realizar cuatro evaluaciones de la incidencia de necrosis apical en los híbridos de tomate (figura 59). En cada lote se establecieron cuatro transeptos y en cada uno se evaluaron 100 plantas, con un total de 400 plantas por lote. Posteriormente, se seleccionaron y colectaron 10 brotes apicales de 20 a 30 cm de tomate con necrosis apical en tomate. Las muestras se colocaron en bolsas de polietileno, se etiquetaron con los datos (lugar de colecta, variedad, fecha de siembra, etapa fenológica, y geoposicionamiento del lote e incidencia con ToANV) y se trasladaron al laboratorio en recipientes con hielo para su análisis inmediato.



Figura 5. Evaluación de la incidencia de ToANV en híbridos de tomate APTX-271.

5.7. Manejo del tomatillo mediante el riego presurizado y su efecto en la incidencia y severidad del ToANV.

Para determinar el efecto de riego presurizado en la incidencia del amarillamiento del tomatillo causada por ToANV, se seleccionaron 16 predios establecidos con este sistema de riego. La incidencia de la enfermedad se determinó en períodos quincenales hasta el final del ciclo del cultivo y se contrastó con la incidencia en 24 predios con riego rodado. Las evaluaciones de incidencia se realizaron como se describe en el apartado 5.2. para tomatillo en los ciclos agrícola 2011-2012 y 2012-2013.

VI. RESULTADOS.

6.1. Identificación del virus causante de la necrosis apical del tomate.

Identificación mediante técnicas moleculares.

Las muestras de plantas de tomate comercial, tomatillo comercial, chiquelite, tabaco silvestre, tomatillo silvestre y toloache que resultaron positivas para ToANV mediante la prueba serológica, se analizaron mediante la reacción de RT-PCR (figura 6), confirmando la presencia del virus en las muestras.

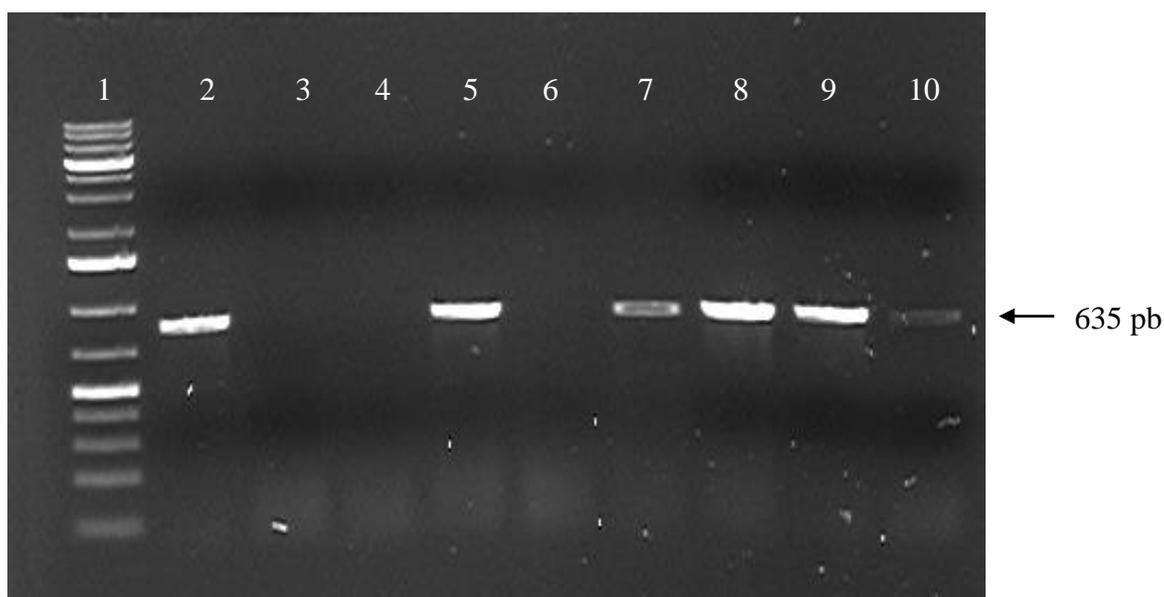


Figura 6. Amplificación del RNA 1 de ToANV. Carril 1 marcador de peso molecular (100 pb). Carril 2) control positivo, Carril 3) control negativo, carril 4) mala mujer, 5) tomatillo, carril 6) chile, carril 7) tomate, carril 8) toloache, carril 9) chiquelite, carril 10) tabaco silvestre.

La secuenciación genómica del RNA 1 de cuatro aislados comparte un alto porcentaje de similitud. El análisis de secuencia del fragmento amplificado revela que las muestras de toloache (A03 TANV 1-8), tomatillo silvestre (A02 TANV 1-6), tomatillo comercial (A01 TANV 1-5) y tomate (A04 TANV 1-16) presentan un 90-98% de similitud con otras secuencias de ToANV reportadas en el NCBI previamente (EF063641.1) (figura 7).

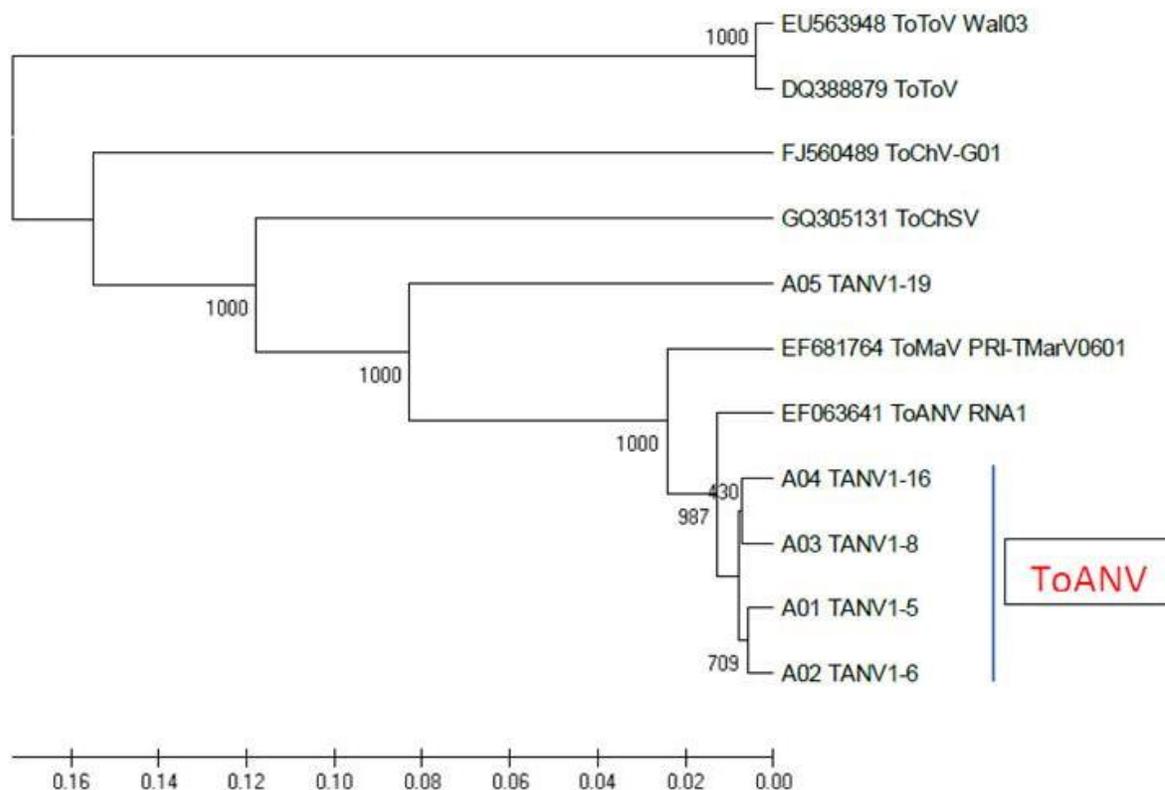


Figura 7. Árbol filogenético basado en secuencias del RNA 1 del grupo de los torradovirus. Comparativo del ToANV del norte de Sinaloa con aislados de dicho grupo de otras partes del mundo.

6.2. Incidencia de ToANV en tomate y tomatillo en el norte de Sinaloa.

Incidencia de ToANV en tomate.

La incidencia del virus de la necrosis apical de tomate varió de 0 – 60 % (cuadro 1) en los 65 predios de tomate muestreados durante los ciclo 2011-2012 y 2012-2013. El mayor número de predios de tomate con necrosis apical, así como la mayor incidencia de la enfermedad (60%) ocurrió durante el ciclo agrícola 2011-2012 (Figura 8). La mayor susceptibilidad a ToANV la presentaron los híbridos Esmeralda, Primus, Brigade y APTX-271 con un 20-60% de incidencia durante dicho ciclo. Es importante resaltar que en este

ciclo agrícola los productores destruyeron al menos uno a cinco predios de cada cultivar debido a la alta incidencia de ToANV.

Como resultado de las observaciones de campo y laboratorio en el ciclo agrícola 2011-2012, se recomendó a los productores evitar el establecimiento de predios de tomates con híbridos susceptibles (Esmeralda, Primus, Brigade y APTX-271), y se recomendó el híbrido DRD8551 (TISEY) el cual muestra un alto grado de resistencia a la enfermedad. En el cuadro 1 se muestran los bajos niveles de incidencia del ToANV en el norte de Sinaloa.

Cuadro 1. Incidencia de ToANV en híbridos de tomate en el norte de Sinaloa durante los ciclos agrícolas 2011-2012 y 2012-2013.

TOMATE			
Ciclo agrícola	Variedad	No. de predio evaluados	Incidencia de ToANV (%)
2011/2012	APTX-271	23	0 – 60
	Brigade	5	3.5 - 43
	Calista o Esmeralda	2	20
	TISEY (DRD8551)	5	0 - <1
	DRD-8564	1	0
	PRIMUS	1	0 - 20
2012/2013	APTX-271	6	0 - 55
	TISEY (DRD8551)	21	0
	Cuauhtémoc	1	0

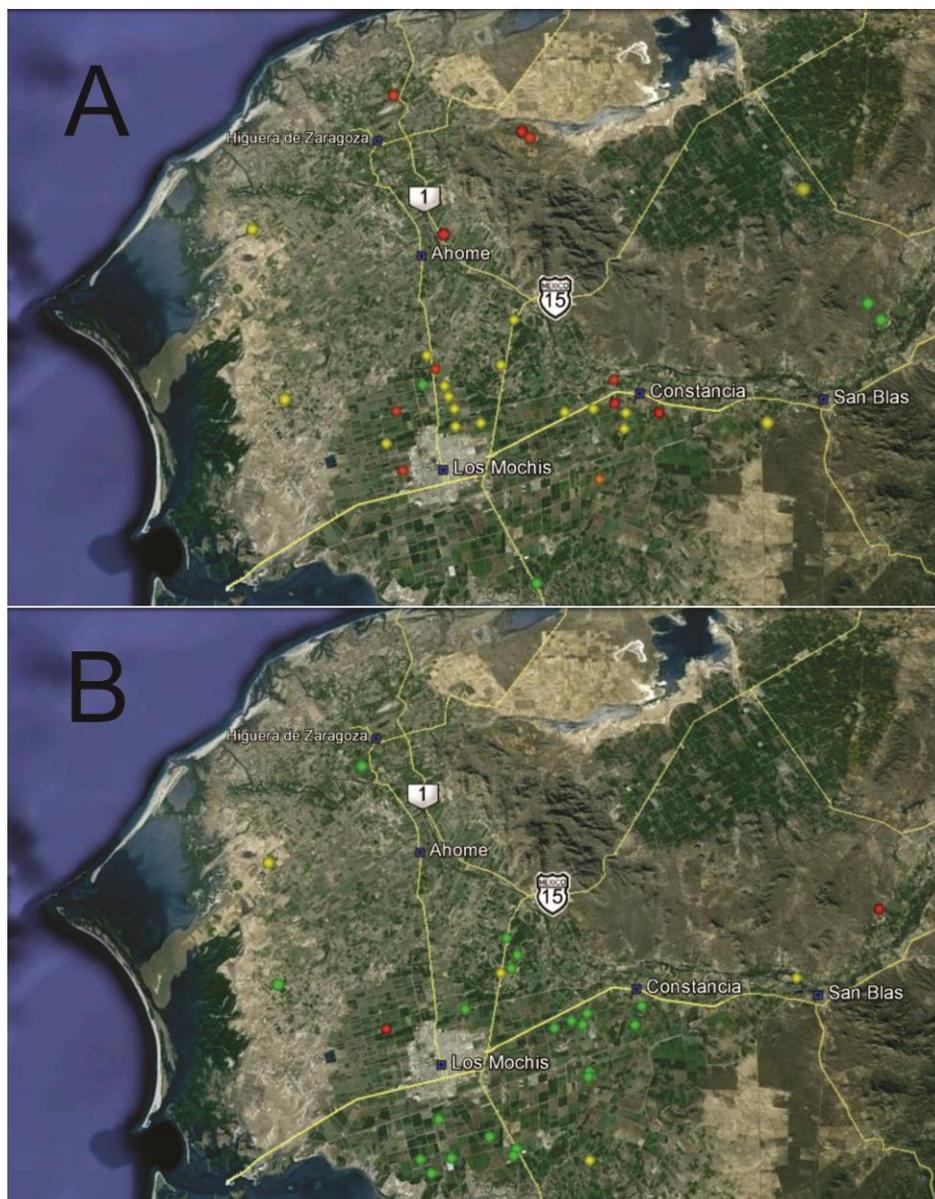


Figura 8. Distribución e incidencia ToANV en lotes comerciales de tomate en el norte de Sinaloa. A) Ciclo agrícola 2011-2012 y B) 2012-2013. Punto verde, amarillo, naranja y rojo significan incidencia de ToANV de 0, 1-15, 16-50 y 51-100% de incidencia, respectivamente.

Incidencia de ToANV en tomatillo.

La incidencia del amarillamiento foliar del tomatillo varió de 1 - 100% en los 67 predios evaluados durante los ciclos agrícolas 2011-2012 y 2012-2013. Los predios de tomatillo con mayor incidencia de la enfermedad se presentaron en el ciclo agrícola 2011-2012 (Figura 9). Las variedades Querétaro, Gran Esmeralda y San Juanito mostraron un alto grado de susceptibilidad al ToANV, con incidencias hasta de un 100% (cuadro 2). Es importante resaltar como resultado de la alta incidencia de la virosis, algunos productores de tomatillo

rastrearon sus predios y en algunos casos volvieron a resembrar tomatillo, y debido alta incidencia de la enfermedad rastrearon las resiembras de nuevo.

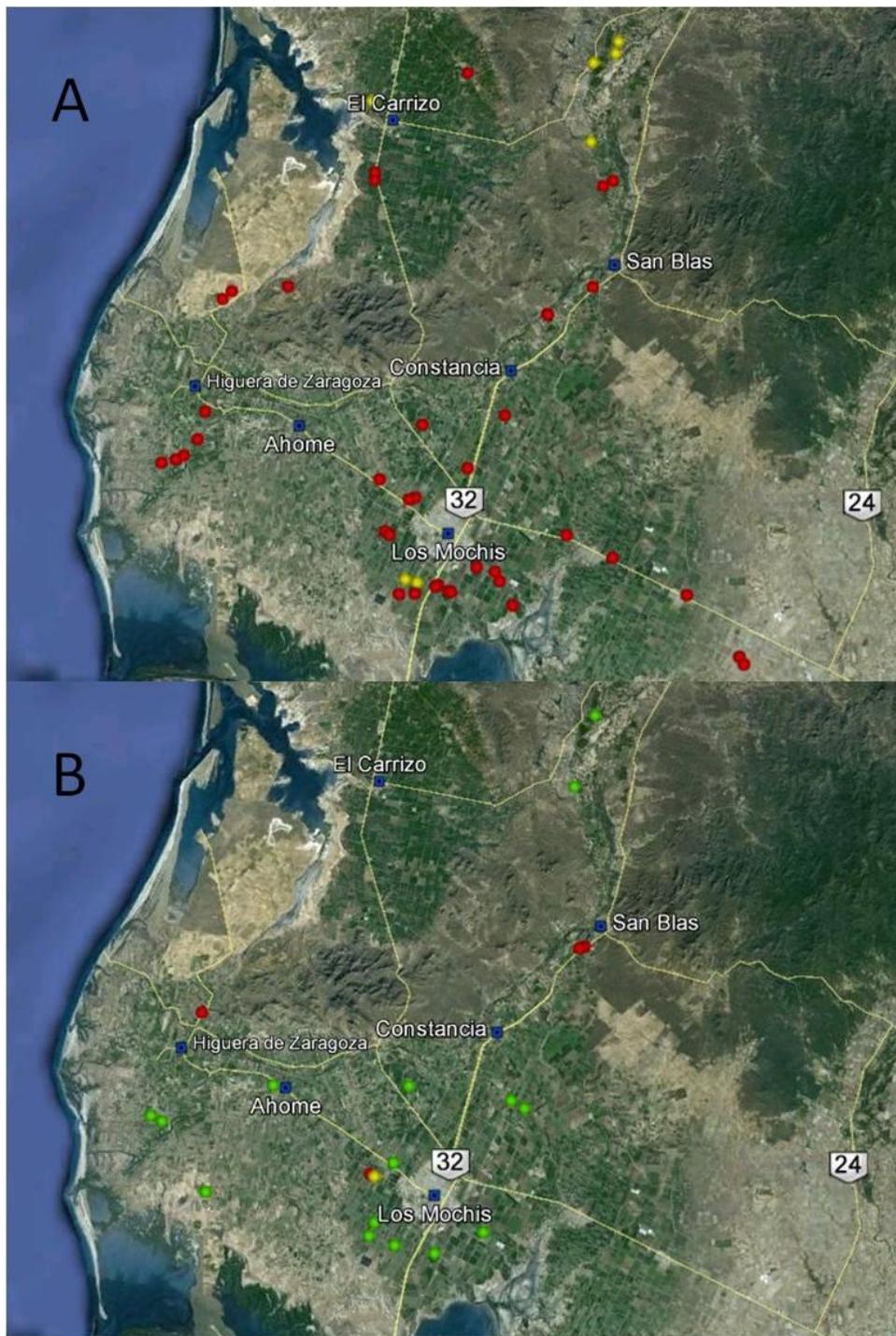


Figura 9. Distribución e incidencia ToANV en lotes comerciales de tomatillo en el norte de Sinaloa. A) Ciclo agrícola 2011-2012 y B) 2012-2013. Punto verde, amarillo y rojo significan incidencia de ToANV de 1-10, 11-39 y 40-100% de incidencia, respectivamente.

Cuadro 2. Incidencia de ToANV en variedades de tomatillo en el norte de Sinaloa durante el ciclo agrícola 2012-2013 y 2013-2014.

TOMATILLO			
Ciclo agrícola	Variedad	No. de predios evaluados	Incidencia de ToANV (%)
2011/2012	Gran esmeralda	5	5-100
	Querétaro	40	2 - 100
	San Juanito	1	100
2012/2013	Querétaro	21	1 - 100

6.3. Rango de hospedantes y distribución del virus de la necrosis apical del tomate

Se colectaron 244 muestras de plantas cultivadas las cuales incluyeron a tomate y tomatillo. También se colectaron 177 muestras de malezas de las familias Amaranthaceae, Apocynaceae, Asteraceae, Compositae, Cucurbitaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Malvaceae, Urticaceae y Solanaceae. El ToANV se detectó en un 98% de muestras de tomate, y en un 96 % de tomatillo; además, se detectó en las siguientes malezas: toloache, chiquelite, tabaco silvestre, y tomatillo silvestre, en un 96, 90, 90 y 85 %, respectivamente, todas estas de la familia Solanaceae; no se detectó el virus en un gran número de malezas presentes en la región pero que pertenecen a otras familia botánica (cuadro 3).

Cuadro 3. Detección de ToANV en plantas silvestres y cultivables.

Familia	Nombre común	Nombre científico	No. de muestras analizadas	Muestras infectadas por ToANV (%)
Solanaceae	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	103	98
	Tomatillo comercial	<i>Physalis ixocarpa</i>	141	96
	Toloache	<i>Datura Sp.</i>	24	96
	Chiquelite	<i>Solanum nigrum</i>	21	90
	Tabaco silvestre	<i>Nicotiana glauca</i>	43	90
	Tomatillo silvestre	<i>Physalis sp.</i>	14	85
Amaranthaceae	Bledo	<i>Amaranthus viridis L.</i>	5	0
Apocynaceae	Huichuri	<i>Pergularia ambrosioides</i>	6	0
Asteraceae	Alinanchi	<i>Plucea sp.</i>	1	0
Compositae	Estafiate	<i>Parthenium hysterophorus</i>	1	0
	Girasol	<i>Helianthus annuus L.</i>	7	0
	Chicura	<i>Franseria ambrosioides</i>	4	0
	Amargoso	<i>Parthenium hysterophorus</i>	7	0
	Batamote	<i>Baccharis glutinosa</i>	1	0
	Guachapote	<i>Xanthium spp</i>	2	0
Cucurbitaceae	Meloncillo	<i>Cucumis melo L</i>	5	0
Euphorbiaceae	Higuerilla	<i>Ricinus communis L.</i>	4	0
Fabaceae	frijolillo	<i>Rhynchosia sp</i>	7	0
Malvaceae	Malva	<i>Sida rhombifolia L.</i>	23	0
	Malva peluda	<i>Abutilon grandidentatum L.</i>	4	0
Urticaceae	Hortiga	<i>Urtica sp.</i>	3	0

En la figura 10 ilustra la distribución del ToANV en plantas cultivadas y silvestres. aun cuando el patógeno se detectó únicamente en malezas de la familia Solanaceae, éstas se encuentran ampliamente distribuidas a lo largo de caminos vecinales así como en los bordos de canales de riego, drenes, lotes baldíos y terrenos ociosos de la región. Este elemento es de suma importancia en la ecología y epidemiología del ToANV pues las plantas silvestres actúan como reservorios de inóculo para el patógeno a partir de los cuales el insecto vector *Bemisia tabaci* lo transmite hacia las especies hortícolas como tomate y tomatillo.

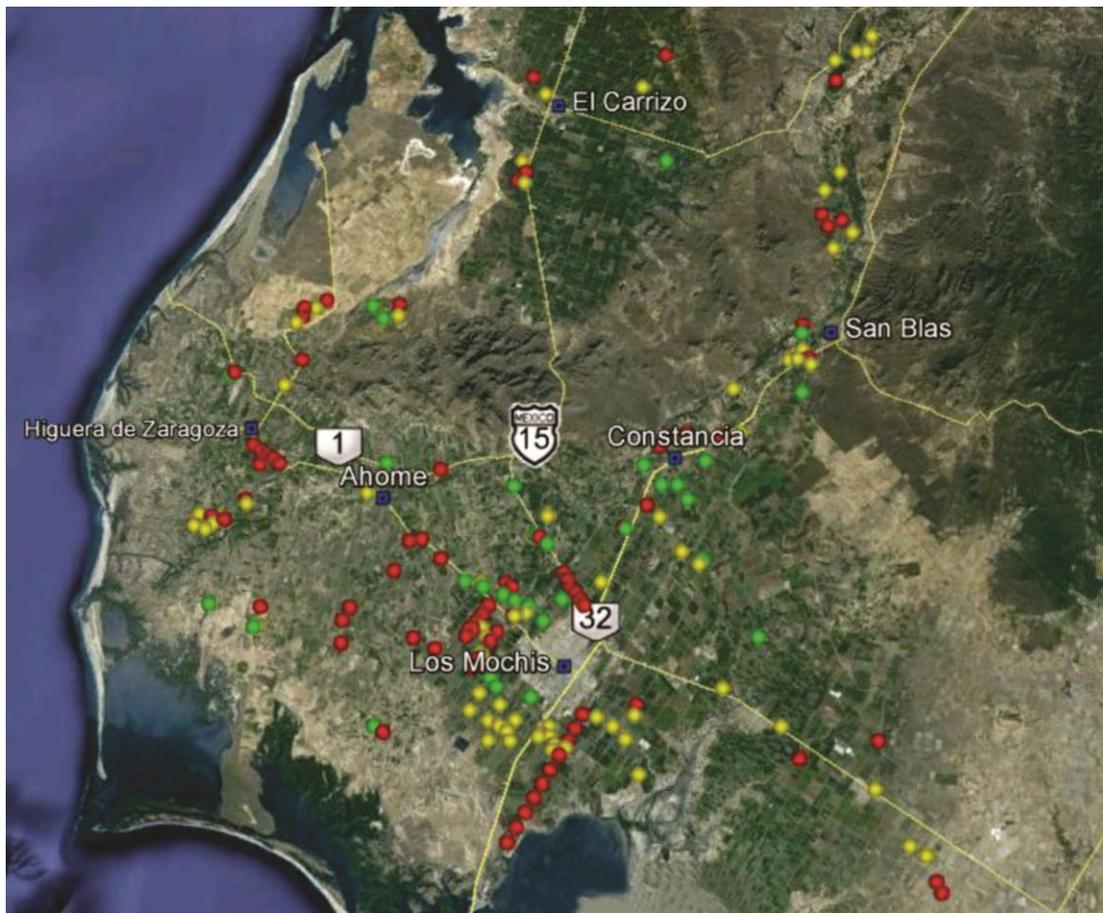


Figura 10. Distribución de ToANV en el norte de Sinaloa en los ciclos agrícolas 2011-2012 y 2012-2013. Los Puntos rojos, verdes y amarillos indican la presencia del virus en maizas, tomate y tomatillo, respectivamente.

6.4. Transmisión del ToANV a plantas cultivadas y plantas silvestre con mosca blanca.

Identificación de la especie de mosca blanca transmisora del ToANV.

La especie de mosca blanca transmisora de la el virus de la necrosis apical del tomate se identificó mediante la utilización de las claves de Martin (1987). Para este propósito se utilizaron pupas las cuales presentaban setas caudales robustas tan largas como el orificio vasidiforme, los lados del orificio vasidiforme son casi rectos y la longitud de este orificio es más larga que el surco caudal (figura 11). Se concluyó que la especie involucrada es *Bemisia tabaci* y está en proceso la identificación molecular del biotipo de dicha especie.

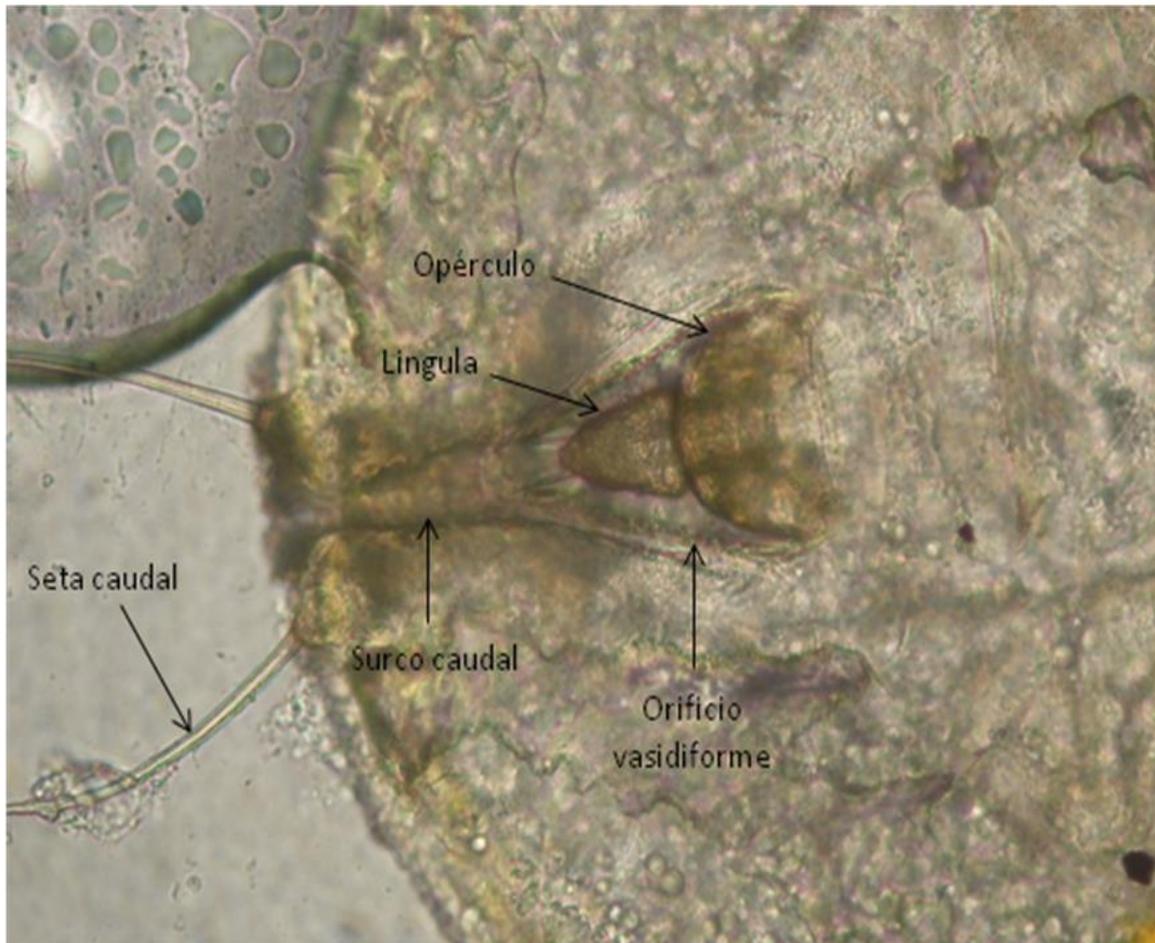


Figura 11. Fotografía de la parte posterior de la pupa de *Bemisia tabaci*, vector del ToANV en tomate, tomatillo y malezas en el norte de Sinaloa.

Transmisión de ToANV

Plántulas de tomatillo de la variedad Querétaro expuestas a moscas blancas portadoras del ToANV (proveniente de tomatillo) mostraron síntomas del virus a los 15 días después del inicio de exposición al vector. El período de transmisión fue de 72 horas y el porcentaje de transmisión fue del 60% esto indica un alto grado de eficiencia del insecto vector en el proceso de transmisión del virus. En tomatillo silvestre la eficiencia de transmisión del virus fue del 40%, tomate, toloache y en chiquelite fue de 30 %. Los primeros síntomas en tomatillo silvestre aparecieron a los 30 días después del inicio a la exposición al vector; en tomate, los síntomas aparecieron a los 7 días, y en toloache y chiquelite los primeros

síntomas se observaron a los 15 días después del inicio a la exposición al vector. En mala mujer y berenjena no hubo transmisión mediante *Bemisia tabaci* (cuadro 4).

Cuadro 4. Trasmisión de ToANV a plantas solanáceas mediante *Bemisia tabaci*.

Maleza	No. de plantas del ensayo	Porcentaje de transmisión
Tomate var APTX-271	10	30
Tomatillo var. Querétaro	10	60
Toloache	10	30
Tomatillo silvestre	10	40
Chiquelite	10	30
Mala mujer	10	0
Berenjena	10	0

6.5. Fluctuación poblacional de mosca blanca en el Valle del Fuerte y su relación con la necrosis apical del tomate y el amarillamiento del tomatillo.

Fluctuación poblacional de mosca blanca en la zona fitosanitaria concheros-9 de Diciembre.

En la figura 12 se indican las poblaciones de mosca blanca en la zona fitosanitaria Concheros-9 de Diciembre en 2011, 2012 y 2013 dicha figura representa a cinco punto de muestreo del insecto en el área de jurisdicción de la Junta Local de Sanidad vegetal. Las mayores poblaciones se presentaron s de enero a mayo con variaciones anuales en dicho período, resaltando el 2012 con las mayores poblaciones del insecto. Durante los tres años de muestreo las poblaciones declinaron a partir de junio se observó que las poblaciones de mosca blanca más bajas se presentaron entre los meses de junio, con ligeros incrementos a partir del noviembre. Es evidente que las poblaciones se incrementan durante los meses frescos del año cuando los cundo los cultivos hortícolas se encuentran en pie y declinan una vez que los cultivos hortícolas y el cultivo de frijol han cumplido su ciclo vegetativo.

Zona Fitosanitaria Concheros – 9 de Diciembre

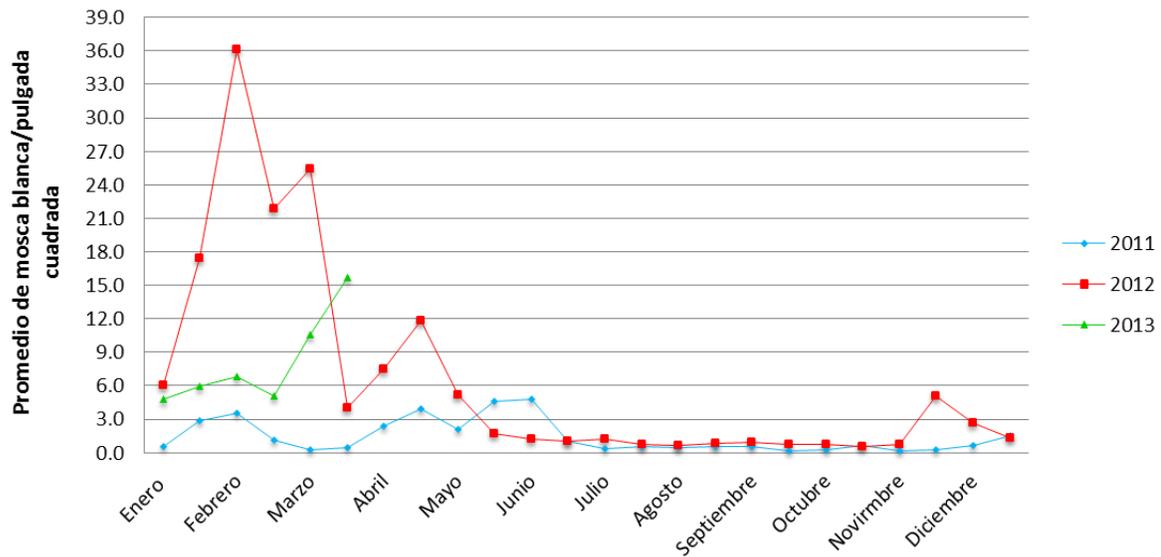


Figura 12. Fluctuación poblacional de mosca blanca en la zona fitosanitaria concheros-9 de Diciembre.

La incidencia del virus de la necrosis del apical del tomate y el amarillamiento de tomatillo muestran una alta correlación con las altas poblaciones de mosca blanca sin embargo, aún cuando las poblaciones del insecto son bajas (0.2 moscas por pulgada cuadrada) durante septiembre, noviembre, y diciembre, se presenta alta incidencia del virus en dichos cultivos, lo cual se debe a la alta eficiencia del insecto vector del virus y los altos niveles de susceptibilidad en algunos híbridos de tomate y todas las variedades de tomatillo.

6.6. Resistencia en híbridos de tomate al ToANV.

Se determinó la resistencia de campo en 7 híbridos de tomate durante los ciclos 2011-2012 y 2012-2013. La incidencia de la enfermedad se determinó en períodos quincenales en los materiales (figura 13). Los híbridos DRD-8551, DRD-8564 y Cuauhtémoc no presentaron síntomas de necrosis apical durante el ciclo del cultivo. En cambio los híbridos Esmeralda Primus, APTX-271 y Brigade la enfermedad ocurrió a partir de los 15 días después del trasplante y se incrementó abruptamente hasta alcanzar un 60 % o más de incidencia lo que condujo a los productores la destrucción de dichos lotes. Es importante señalar que los predios sembrados con los híbridos que presentaron resistencia se vieron sometidos a altas

poblaciones con mosca blanca y fuentes de inóculo de ToANV cercanas, lo que implica que esta resistencia de campo es el reflejo de mecanismos de los híbridos a un desconocido.

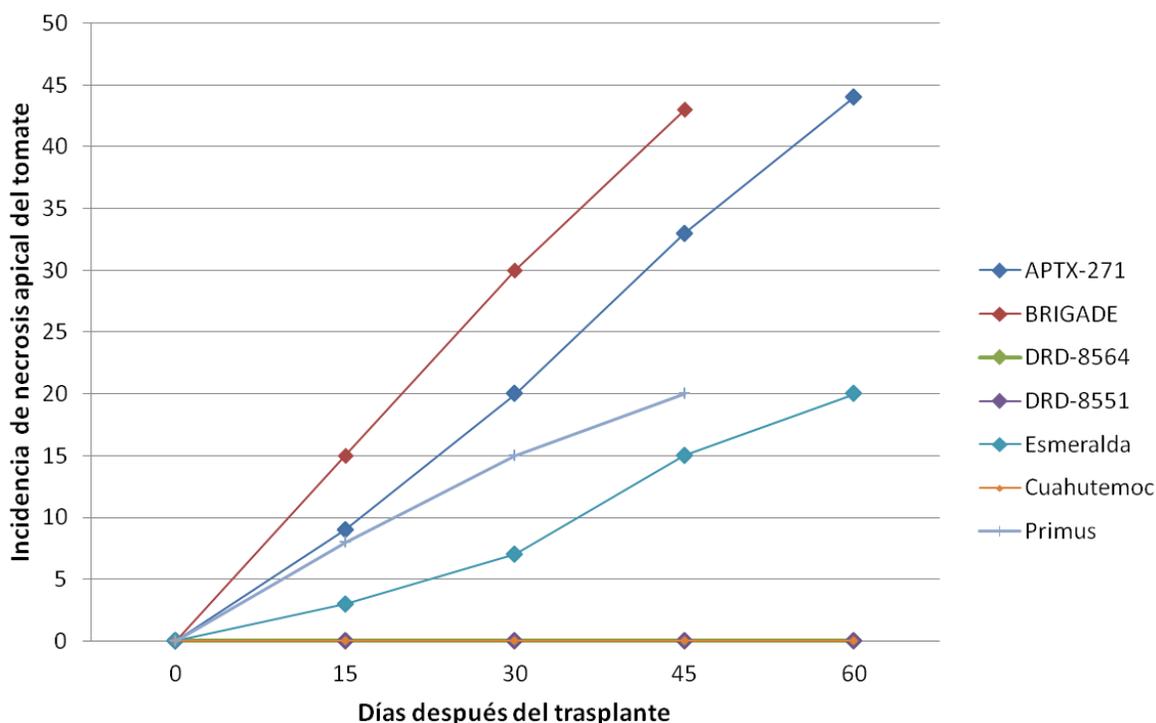


Figura 13. Evaluación de resistencia de híbridos de tomate al virus de la necrosis apical del tomate en el norte de Sinaloa.

6.7. Manejo del tomatillo mediante el riego presurizado y su efecto en la incidencia y severidad del ToANV.

La incidencia del amarillamiento foliar del tomatillo en predios establecidos con riego rodado varió de 37- 100% 67 predios evaluados durante los ciclos agrícola 2011-2012 y 2012-2013. Lo anterior contrastó con la incidencia en lotes manejados mediante la utilización del riego presurizado, donde la incidencia varió de 1-5% del ciclo agrícola 2011-2012 y del 1 al 10 % en el 2012-2013 (cuadro 5).

Cuadro 5. Efecto del sistema de riego presurizado en el manejo del ToANV en tomatillo en el norte de Sinaloa.

TOMATILLO					
Ciclo agrícola	Sistema de riego	Lotes evaluados	Incidencia de ToANV (%)	Cortes	Producción (Ton/ha)
2011-2012	Rodado	44	40-100	.-	.-
	Goteo	2	1-5	.-	.-
2012-2013	Rodado	7	37-100	2	7
	Goteo	14	1-10	8	50



Figura 14. Predios de tomatillo var. Querétaro con diferentes sistemas de riego. A) Predio de tomatillo con sistema de riego presurizado y B) predio de tomatillo con riego rodado.

VII. DISCUSIÓN.

Técnicas serológicas y moleculares permitieron la detección e identificación del virus de la necrosis apical del tomate en tomatillo, tomate, y malezas como chiquelite, tomatillo silvestre, tabaco silvestre y toloache. Estudios moleculares indican que ToANV en Sinaloa se ubica en el grupo de los torradovirus (Navas Castillo *et al.*, 2011), es importante señalar que estudios preliminares del patógeno en esta región indican la presencia de nuevas variantes del virus los cuales no se han registrado en la literatura. De igual forma, se infiere que dada la coinfección por diferentes variantes se podrán originar nuevas variantes del virus en el futuro, lo cual incrementará la complejidad de la enfermedad y su subsecuente manejo.

En general, la incidencia y severidad del ToANV en tomate y tomatillo disminuyó en el ciclo agrícola 2012-2013 con respecto al ciclo 2011-2012. Esto se debe a las estrategias de manejo emprendidas por los productores con base en resultados de investigación generados por este grupo de trabajo en el ciclo 2011-2012; estas acciones incluyen: a) La utilización del híbrido DRD8551 (Tisey) el cual muestra resistencia de campo al ToANV y b) la incorporación del riego presurizado y acolchado en el manejo del cultivo de tomatillo, lo cual de manera colateral ha jugado un papel importante en el control del ToANV. Estos dos esquemas de manejo son de suma importancia ya que el primero no involucra el uso de insecticidas para el control de la enfermedad. En el caso del tomatillo, aun cuando no existen variedades resistentes al virus, el sistema de riego presurizado permite la aplicación de insecticidas sistémicos los cuales se translocan en la planta y ejercen un control eficiente de la mosca blanca que actúan como agente transmisor del virus.

Con respecto al rango de hospedantes del virus, se encontró que de las especies incluidas en las 10 familias botánicas, sólo los miembros de la familia Solanaceae resultaron susceptibles al ToANV en el norte de Sinaloa. Este es el primer estudio a nivel mundial en el cual se registran como hospedantes infectados en forma natural al tomatillo comercial, tomatillo silvestre, tabaco silvestre, chiquelite y toloache. Este hallazgo es importante debido a que la eliminación de las plantas silvestres de la familia Solanaceae en la cercanía de los predios de tomate y tomatillo contribuirá a la disminución de riesgo de incidencia del virus en tomate y tomatillo.

Además del descubrimiento de nuevos hospedantes naturales de ToANV en el norte de Sinaloa, se determinó que dicho virus se transmite de tomatillo a tomate, tomatillo comercial, tomatillo silvestre, chiquelite y toloache mediante mosca blanca (*Bemisia tabaci*). Se determinó además que el insecto requieren al menos 24 horas para la adquisición y transmisión del virus, esto es importante en la implementación de estrategias del manejo de la enfermedad, ya que los insecticidas de tipo sistémicos, principalmente aquellos que se aplican en riegos presurizados, muestran un mayor potencial de eficacia en el manejo de ToANV

Con respecto a la fluctuación poblacional de *Bemisia tabaci*, insecto vector de ToANV en el norte de Sinaloa; las mayores poblaciones se presentan durante los meses, enero-mayo lo cual coincide con altas incidencias del virus en tomate y tomatillo, sin embargo, altas incidencia de la enfermedad se han registrado en septiembre-diciembre, lo que indica que el vector es altamente eficiente en la transmisión del virus, lo cual se ha demostrado en el presente estudio. *Bemisia tabaci* ha sido consignada como vector de los virus del genero criniviruses, ipomoviruses, carlaviruses, begomovirus y torradoviruses (Navas Castillo *et al.*, 2011) como resultado de la presente investigación se confirma una vez más la eficiencia de este insecto como vector del ToANV en hospedantes no reportados en otras partes del mundo.

Con base a las recomendaciones derivadas del presente estudio, los productores de tomatillo en la zona de influencia de la Junta Local del Valle del Fuerte han reducido la incidencia del ToANV de 1-10% en contraste con los predios convencional (rodado) donde la incidencia alcanza hasta el 100% por lo que son destruidos por los mismos productores. Esta estrategia de manejo tiende a generalizarse en el Valle debido a que no existen variedades tomatillo con resistencia de campo y este sistema de riego permite optimizar el uso de insecticidas en el control del insecto vector.

VIII. CONCLUSIONES.

1. El virus de la necrosis apical del tomate (ToANV) se detectó serológicamente y molecularmente en forma consistente en plantas con síntomas de necrosis apical del tomate, amarillamiento del tomatillo y especies silvestres de la familia Solanaceae en el norte de Sinaloa.
2. Los híbridos de tomate Esmeralda, Primus, Brigade, APTX-271 y las variedades de tomatillo Querétaro, gran esmeralda y San Juanito son altamente susceptibles a ToANV, mientras que los híbridos de tomate DRD-8551, DRD-8564 y Cuauhtémoc muestran altos niveles de resistencia de campo al virus.
3. El chiquelite, tomatillo silvestre, tabaco silvestre y toloache la familia Solanaceae son fuente de inóculo de ToANV. Estas especies silvestres se encuentran ampliamente distribuidas en caminos vecinales, terrenos ociosos, bordos de drenes y canales de riego en el norte de Sinaloa.
4. La mosca blanca (*Bemisia tabaci*) es el vector del ToANV transmite la enfermedad de malezas a predios comerciales de tomatillo y tomate y el insecto es altamente eficiente como vector pues aún con poblaciones bajas en campo se presentan altas incidencias de la enfermedad.
5. En dos ciclos agrícolas consecutivos, la incidencia y daño por el ToANV en tomatillo se redujeron de manera significativa mediante el uso de riego presurizado para el manejo de dicho cultivo, esto contrasta con los altos niveles de incidencia y pérdidas causados por la enfermedad en predios de tomatillo en riego rodado.
6. La integración del conocimiento sobre la identidad del virus, sus formas de transmisión en campo y los hallazgos sobre resistencia varietal en tomate al ToANV han reducido las pérdidas por este patógeno en el cultivo en el norte de Sinaloa. Así mismo, aun cuando en tomatillo no existen variedades con resistencia de campo al virus, el manejo del mismo mediante riego presurizado representa una alternativa viable para el manejo de la enfermedad mediante el control del insecto vector a través del uso de insecticidas en este sistema de riego.

IX. LITERATURA CITADA.

- Bouzar, H., Jones, J. B., Sodomí, G. C., Stall, R. E., Daouzli, N., Lambe, R. C., Félix-Gastéllum, R. & Trinidad-Correa, R. (1996). Diversity of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in tomato and pepper fields of Mexico. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 18, 75-77.
- Delgado, S.S. 1974. Los Virus que atacan al virus del chile en México. Sus implicaciones. Identificación, transmisión y medidas de combate. Agric. Tec. En México. 317-325.
- Edgar RC (2004) MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* 32: 1792-1797.
- Holmes, F.O. 1958. Handbook of phytopathological virus. Burges publishing. 211 pp.
- Huelsenbeck JP, Ronquist F (2001) MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754-755.
- León-Gallegos, H.M. 1988. Enfermedades de cultivos en el estado de Sinaloa. Tercera edición. CAEVACU-CIAPAN. INIFAP. Culiacán, Sinaloa, México. 262 p.
- Ley, F.J. y Sánchez, C.M. 1991. “Virus del enchinamiento del tomate”, en: *enfermedades de las hortalizas*. Primera edición. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. 29p.
- Martin, J. H. 1987. An identification guide to common whitefly pest species of the world (Homoptera: Aleyrodidae). *Tropical Pest Management*. 33: 298-322.
- Navas-Castillo J., Fiallo-Olive E., Sanchez-Campos S. 2011. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. *Annual Review of Phytopathology*. pp. 219-248.
- Posada D (2008) jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25: 1253-1256.
- Ramírez, V.J. y Ley, J.H. 1991. “Virus de la marchitez manchada del tomate”. Primera edición. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. 27p.

- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, and Kumar S (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-2739.
- Turina, M., Ricker, M. D., Lenzi, R., Masenga, V., and Ciuffo, M. 2007. A severe disease of tomato in the Culiacan area (Sinaloa, Mexico) is caused by a new picorna-like viral species. *Plant Dis.* 91:932-941.