

**UNIVERSIDAD NACIONAL  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA TIERRA Y EL MAR  
ESCUELA DE CIENCIAS AGRARIAS  
LICENCIATURA EN INGENIERÍA EN AGRONOMÍA**

**Incidencia y distribución de *Impatiens necrotic spot orthotospovirus* (INSV) e *Iris yellow spot orthotospovirus* (IYSV) en el cultivo de cebolla (*Allium cepa* L.) en Zarcero, Costa Rica**

**Trabajo de graduación sometido a consideración del Tribunal Examinador de la Escuela de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional para optar al grado de Licenciatura en Ingeniería en Agronomía con énfasis en Agricultura Alternativa**

**JUAN LUIS CAMPOS BARQUERO**

**Heredia, Costa Rica**

**Noviembre, 2022**

Trabajo de graduación aprobado por el Tribunal Examinador de la Escuela de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional, para optar al grado de Licenciatura en Ingeniería en Agronomía con énfasis en Agricultura Alternativa

### **MIEMBROS DEL TRIBUNAL EXAMINADOR**

---

M.Sc. Alonso Calvo Araya  
Representate de la Facultad de Ciencias de la Tierra y el Mar

---

Dr. Ramón Molina Bravo  
Representate de la Escuela de Ciencias Agrarias

---

M.Sc. Allan González Herrera  
Tutor de Tesis

---

Dr. Mauricio Montero Astúa  
Lector

---

M.Sc. Jesús Alexander Rodríguez Arrieta  
Lector

---

Bach. Juan Luis Campos Barquero  
Postulante

## **DEDICATORIA**

A mi madre, la persona más importante en mi vida. Te amo tita.

A mi hermano y hermanas, los cuales siempre han confiado en mis capacidades y me han apoyado durante toda mi formación personal y profesional.

## AGRADECIMIENTOS

A las personas productoras que formaron parte de esta investigación, los cuales siempre me recibieron con los brazos abiertos.

Al proyecto “Estrategia integral para disminuir el uso de plaguicidas en la agricultura y mejorar la calidad ambiental en Zarcero, Alajuela”, y a la académica coordinadora del proyecto, la Dr. Martha Orozco Aceves, por permitirme ser partícipe de un excelente equipo multidisciplinario, por brindarme la oportunidad de desarrollar esta investigación, así como, un sincero agradecimiento por todas las experiencias y conocimientos adquiridos.

A mi tutor el M.Sc. Allan González Herrera, quién a lo largo de mi formación académica confió en mis capacidades. No solo ha sido un mentor, sino también un amigo.

A mi asesor el Dr. Mauricio Montero Astúa, por su permanente acompañamiento a lo largo de este proceso. Gracias por todo su apoyo, consejos y recomendaciones.

A mi asesor el M.Sc. Alexander Rodríguez Arrieta, por su ayuda en la identificación taxonómica, por los consejos y observaciones a este trabajo.

A Sofía Carvajal, Laura Garita y al resto de personal del LaFOV, por brindarme un tiempo agradable durante mi pasantía en el laboratorio.

A Luis Arturo Arrieta, Jorge Berrocal Alfaro y Christian Barquero Zuñiga por su apoyo durante los muestreos en campo.

Al fondo para el fortalecimiento de las capacidades estudiantiles (FOCAES-INV), por el aporte económico brindado para concluir este trabajo.

## RESUMEN

Los *Orthospovirus* (Orden: *Bunyavirales*, familia: *Tospoviridae*) y sus insectos vectores, trips (Thysanoptera: Thripidae), representan una amenaza para la agricultura, debido a que ocasionan severas pérdidas económicas. El manejo de estos organismos radica en evitar su propagación y distribución. Por ello, un diagnóstico y monitoreo temprano son fundamentales. En Costa Rica, se ha reportado en el cultivo de cebolla la presencia de los *Orthospovirus* “Impatiens necrotic spot orthospovirus” (INSV) e “Iris yellow spot orthospovirus” (IYSV), en las provincias de Cartago y San José. No obstante, se desconoce la distribución de ambos virus en otras regiones del país. El objetivo de esta investigación fue determinar la presencia, incidencia y distribución de INSV e IYSV, así como, identificar las especies de trips asociadas al cultivo de cebolla, en el cantón de Zarcero, Alajuela. Se realizaron muestreos en los distritos de Guadalupe, Laguna, Palmira, Tapezco y Zarcero; durante la temporada seca y lluviosa del 2021. Se georreferenciaron y muestrearon 26 fincas con cultivo de cebolla, 14 durante la estación seca y 12 durante la estación lluviosa. Por cada finca se recolectaron 10 muestras de tejido foliar de cebolla y un promedio de tres especies distintas de arvenses, además, de la recolecta de muestras de tisanópteros. Para detectar la presencia de INSV e IYSV, se analizaron las muestras mediante DAS-ELISA. Para representar la distribución de los virus, se realizó un mapa. Los trips fueron identificados por medio de claves dicotómicas. En total se recolectaron 260 muestras de cebolla y 71 de arvenses. Se detectó la presencia de IYSV en 22 muestras de cebolla, por lo que se determinó una incidencia promedio de un 8,4%. IYSV solo se encuentra distribuido en el distrito de Zarcero y la frecuencia de fincas positivas representa el 11.5% de las fincas muestreadas. Por lo contrario, INSV no se detectó en cebolla. En cebolla, *Thrips tabaci* fue la especie predominante (98,5% de las especies identificadas). Por lo anterior, se recomienda establecer medidas de manejo fitosanitario con el objetivo de evitar la diseminación del virus a otras regiones y evitar posibles pérdidas económicas.

## ABSTRACT

*Orthospovirus* (Order: *Bunyavirales*, family: *Tospoviridae*) and their vector insects, thrips (Thysanoptera: Thripidae), represent a threat to agriculture because they cause severe economic losses. The management of these organisms lies in preventing their propagation and distribution. Therefore, early diagnosis and monitoring are essential. In Costa Rica, the presence of the *Orthospovirus* Impatiens necrotic spot orthospovirus (INSV) and Iris yellow spot orthospovirus (IYSV) has been reported in onion fields in the provinces of Cartago and San José. However, the distribution of both viruses in other regions of the country is unknown. The objective of this research was to determine the presence, incidence and distribution of the *Orthospovirus* INSV and IYSV, as well as to identify the species of thrips associated with onion fields in Zarcero, Alajuela. Samplings were carried out in the districts of Guadalupe, Laguna, Palmira, Tapezco and Zarcero; during the dry and rainy season of 2021. In addition to the collection of samples of thrips, 26 onion fields were georeferenced and sampled, 14 during the dry season and 12 during the rainy season. For each onion field, 10 samples of onion leaf tissue and an average of three different species of weeds were collected. To detect the presence of the *Orthospovirus* INSV and IYSV, the samples were analyzed by DAS-ELISA. To represent the distribution of the viruses, a map was made. Thrips were identified using dichotomus keys. In total, 260 onion samples and 71 weed samples were collected. The presence of IYSV was detected in 22 onion samples, for which an average incidence of 8,4% was determined. IYSV is only distributed in the district of Zarcero and the frequency of positive onion fields represent 11,5% of onion fields sampled. In contrast, INSV was not detected in onion. On onion, *Thrips tabaci* was the predominant species (98.5% of the identified species). Therefore, it is recommended to establish phytosanitary management measures in order to prevent the spread of the virus to other regions and avoid possible economic losses.

## TABLA DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN .....	13
1.2 OBJETIVOS.....	17
1.2.1 Objetivo general .....	17
1.2.2 Objetivos específicos.....	17
2. MARCO TEÓRICO .....	18
2.1 Importancia y generalidades del cultivo de cebolla .....	18
2.2 Orden Thysanoptera .....	19
2.3 Biología y ecología de los tisanópteros.....	20
2.4 Metamorfosis y morfología de los tisanópteros .....	21
2.5 Ciclo de vida y comportamiento infectivo de los tisanópteros .....	22
2.6 Trips vectores de <i>Orthospovirus</i> .....	23
2.7 Virus fitopatógenos del género <i>Orthospovirus</i> .....	24
2.8 Estructura y organización del genoma de <i>Orthospovirus</i> .....	25
2.9 Interacción trips- <i>Orthospovirus</i> -hospedero .....	28
2.10 Sintomatologías y daños en cebolla ocasionados por INSV e IYSV .....	31

2.11 Hospedantes de INSV e IYSV .....	33
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	34
3.1 Fase de campo .....	34
3.1.1 Localización y descripción del área de estudio .....	34
3.1.2 Muestreo y diagnóstico de fincas .....	34
3.2 Fase de laboratorio .....	35
3.3 Detección de <i>Orthospovirus</i> .....	35
3.3.1 Recolección y preparación de muestras .....	35
3.3.2 Extracción de las muestras .....	36
3.3.3 Prueba serológica DAS-ELISA.....	36
3.3.4 Análisis en laboratorio .....	39
3.4 Determinación incidencia y distribución de <i>Orthospovirus</i> .....	39
3.5 Identificación de especies de trips.....	40
3.5.1 Muestreo y captura de trips .....	40
3.5.2 Maceración y deshidratación.....	40
3.5.3 Montaje.....	41
3.5.4 Identificación de especies.....	41



4. RESULTADOS .....	42
4.1 Detección de <i>Orthospovirus</i> .....	42
4.2 Determinación de la distribución e incidencia de los <i>Orthospovirus</i> .....	44
4.3 Identificación morfológica y taxonómica de tisanópteros .....	46
5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	52
5.1 Detección de <i>Orthospovirus</i> .....	52
5.2 Determinación de la distribución e incidencia de los <i>Orthospovirus</i> .....	54
5.3 Identificación morfológica y taxonómica de los tisanópteros.....	56
6. CONCLUSIONES .....	60
7. RECOMENDACIONES .....	61
8. REFERENCIAS .....	62
9. ANEXO.....	81

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Muestras positivas para el análisis de INSV e IYSV, detectadas mediante la prueba serológica DAS-ELISA, recolectadas en siembras de cebolla en la zona de Zarcero durante la temporada seca y lluviosa del 2021.....	42
--	----

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Estructura y organización del genoma de los *Orthospovirus*. A) partícula viral de un *Orthospovirus* envuelta por una membrana de fosfolípidos que interactúa con las glicoproteínas Gc y Gn. Dentro de la membrana se encuentran los tres segmentos de ARN: L = largo, M = mediano y S = pequeño. Cada cadena de ARN contiene una proteína L o RdRp, y estas cadenas están encapsuladas por proteínas N formando complejos de ribonucleoproteínas. B) organización del genoma segmentado de los *Orthospovirus*. En el segmento S, se codifican las proteínas N y NSs en sentido viral y viral complementario, respectivamente. En el segmento M, se codifican las proteínas Gc y Gn en sentido viral, y la proteína Nsm en viral complementario. El segmento L codifica la proteína “L” en sentido viral.....26
- Figura 2.** Proceso general del ensayo de inmunoabsorbancia ligado a enzimas tipo sándwich (DAS-ELISA). A) placa de micro titulación luego de la adición de los anticuerpos de captura. B) placas de micro titulación en cámara húmeda. C) placa de micro titulación con los antígenos y los controles positivos y negativos. D) placa de microtitulación con el anticuerpo conjugado. E) placas de micro titulación, luego de añadir el sustrato. E) reacción positiva del sustrato (coloración amarilla).....38
- Figura 3.** Sintomatología de las muestras positivas para los *Orthospovirus* INSV e IYSV. A y B) tejido foliar de cebolla con manchas cloróticas secas. C, D y E) tejidos foliares de *C. bonariensis*, *D. abyssinica* y *P. candidum*, respectivamente, con síntomas cloróticos similares a los ocasionados por insectos chupadores.....43
- Figura 4.** Mapa distribución de la presencia de INSV e IYSV, en fincas con cultivo de cebolla (*A. cepa*) en el cantón de Zarcero durante el 2021. A. Distribución de fincas positivas de INSV e IYSV durante la temporada seca (febrero-marzo). B. Distribución de fincas positivas de IYSV durante la temporada lluviosa (julio-diciembre). Escala 1:10000. Sistema de coordenadas CRTM05.....45

**Figura 5.** A) *Thrips tabaci* (♀), en la figura se observa la primera vena del ala anterior con setas discontinuas (flecha negra). B) filas de microtriquias (flecha negra) en los pleurotergitos abdominales. C) ctenidia (flecha blanca) en el tergito abdominal VIII posteriomedial al espiraculo (flecha negra). D) par de sensilias campaniformes en el IX tergito abdominal. E) antenas con siete antenómeros. F) tres setas laterales en el II tergito abdominal..... 48

**Figura 6.** A) *Frankliniella fusca* (♀). B) pedicelo del III antenómero corto, no convexo y sin bordes. C) SO3 (marcas verdes) emergiendo del margen anterior de los ocelos posteriores. D) conos sensoriales bifurcados (flecha negra) en los antenómeros III-IV. E) antena con ocho antenómeros. F) sensilas campaniformes en el metanoto..... 49

**Figura 7.** A) *Frankliniella occidentalis* (♀). B) fila de setas continuas en las venas de las alas anteriores (flecha negra). C) craspedum (flecha blanca) en el tergito abdominal VIII más largo que las setas discales en el IX tergito. D) SO3 surgiendo ligeramente del margen anterior de los ocelos posteriores, y las bases de las setas cercanas al margen del triángulo ocelar (flecha negra). Seta post ocular I (flecha blanca) presente. E) ctenidia (flecha blanca) situada posteroanterior al espiráculo (flecha negra) en el VIII tergito abdominal.....50

**Figura 8.** A) *Frankliniella schultzei* (♀). B) SO1 presente (marcas azules), SO3 cercanas al margen anterior de los ocelos posteriores. C) pronoto con 0-5 pares de setas largas (flechas negras)..... 51

## **LISTA DE ANEXOS**

<b>Anexo 1.</b> Especies de plantas recolectadas en siembras de cebolla en la zona de Zarcero durante la temporada seca y lluviosa del 2021, analizadas mediante DAS-ELISA para la presencia de los virus fitopatógenos Impatiens necrotic spot orthospovirus (INSV), Iris yellow spot orthospovirus (IYSV), leek yellow stripe virus (LYSV) y onion yellow dwarf virus (OYDV).....	81
---	----

## 1. INTRODUCCIÓN

Los virus fitopatógenos son una amenaza para la agricultura y la seguridad alimentaria. Son parásitos obligados que inducen alteraciones fisiológicas y morfológicas en los cultivos (Zhao *et al.*, 2016). Esto ocasiona mermas en calidad y rendimiento, provocando severas pérdidas económicas (Mumford, Macarthur y Boonham, 2016; Oliver y Whitfield, 2016; Shiberu y Mahammed, 2014).

Su manejo se fundamenta en evitar su propagación y dispersión (Rubio, Galipienso y Ferriol, 2020). Por ello, el diagnóstico y monitoreo temprano son estrategias cruciales. Investigar la distribución e incidencia de un patógeno es una herramienta que permite tomar decisiones fitosanitarias pertinentes. Con ello, prevenir su diseminación y salvaguardar los cultivos desde ámbitos económicos, ecológicos y sociales (Hong y Lee, 2018; Sunpapao, 2012).

Los virus pertenecientes al género *Orthotospovirus* (*Bunyavilares: Tospoviridae*) son uno de los principales patógenos de importancia agrícola. Su relevancia epidemiológica radica en su diversidad de especies, su capacidad de adaptación a distintos ambientes, su amplio espectro de plantas hospederas, pero sobre todo porque ocasionan pérdidas económicas considerables (Zhang *et al.*, 2021; Zhao, Margaria y Rosa, 2018). Alrededor del mundo, los daños causados por *Orthotospovirus* generan pérdidas anuales superiores al billón de dólares (Ghosh *et al.*, 2017).

En Costa Rica, entre el periodo 2015-2017 se reportó por primera vez en el cultivo de cebolla la presencia de los *Orthotospovirus* “Impatiens necrotic spot orthotospovirus” (INSV) e “Iris yellow spot orthotospovirus” (IYSV). Ambos virus son de importancia agrícola. No obstante, en el país solo se ha reportado su presencia en las provincias de Cartago y San José (Dejuk-Protti, 2015; Montero-Astúa, Dejuk-Protti, Vásquez, Garita y Moreira, 2017). Luego de la provincia de Cartago, la zona de mayor producción del cultivo es el cantón de Zarcero en Alajuela. En la región de Zarcero se produce por año aproximadamente 3750 Tm, que corresponden cerca del 10% de la producción nacional de cebolla (Caravaca, 2020), por consiguiente, representa una de las zonas de mayor interés.

Los *Orthotospovirus* inducen una serie de alteraciones fisiológicas en las plantas, estas conllevan a la aparición de síntomas y eventuales daños (Zhao *et al.*, 2016). En cebolla, los síntomas producidos por estos virus se manifiestan en los escapos florales y en las hojas (du Toit, Pappu, Druffel y Pelter, 2004; Kamal, Nourbakhsh y Cramer, 2021). Estos síntomas son similares a otros ocasionados por patógenos no virales, lo cual dificulta el diagnóstico en campo. En general, son manchas cloróticas secas y alargadas. Estas, en estados avanzados pueden provocar incluso necrosis (Ramírez-Rojas *et al.*, 2016). El IYSV esporádicamente produce un síntoma singular, anillos cloróticos que asemejan la figura de un diamante. En general, estos síntomas reducen la actividad fotosintética, afectando el peso y tamaño del bulbo, ocasionando mermas en rendimiento y por ende provocando pérdidas económicas (Bag *et al.*, 2015).

A nivel mundial, el virus fitopatógeno más importante en el cultivo de cebolla es IYSV, esto debido a que provoca severas pérdidas económicas. Por ejemplo, una epidemia en Colorado, Estados Unidos, durante el 2003 generó pérdidas cercanas a los cinco millones de dólares (Gent, Schwartz y Kholsa, 2004). En España, se han reportado mermas en rendimiento de hasta el 60,0% (Muñoz, Lerma, Lunello y Schwartz, 2014). En México, se han reportado incidencias del 100% con porcentajes de severidad de hasta el 90,0% (Ramírez-Rojas *et al.*, 2016). En Brasil, incluso se han presentado pérdidas totales y el abandono del cultivo (Pozzer *et al.*, 1999). Por otra parte, en República Checa se ha identificado en el cultivo de cebolla, la presencia de INSV (Mansouri, Krahulec, Duchoslav y Ryšánek, 2021). No obstante, no se reportan daños ocasionados por este patógeno en dicho cultivo. Sin embargo, es un virus de importancia epidemiológica, el cual está asociado principalmente con plantas ornamentales. En los cuales pueden provocar pérdidas de hasta el 100% de la producción (Smirnova, Shneider y Karimova, 2016).

Los virus fitopatógenos son transmitidos principalmente por insectos, estos influyen en la dispersión, incidencia y severidad de los patógenos (Gill, Garg, Gill, Gillet y Nault, 2015; Grode, Chen, Walker y Szendrei, 2017; Leach, Hay, Harding, Damann y Nault, 2019). Algunas especies del orden Thysanoptera son considerados plagas porque indirectamente son vectores de virus de los géneros *Alphacarmovirus*, *Ilarvirus*, *Machlomovirus* y *Orthospovirus* (He, Guo, Reitz, Lei y Wu, 2020).

En particular, los *Orthospovirus* solo son transmitidos por trips de la familia Thripidae (Rotenberg, Jacobson, Schneiweis y Withfield, 2015). Familia esta compuesta por 2180 especies vigentes, de las cuales sólo 15 especies son vectores de *Orthospovirus* (Mound y Hastenpflug-Vesmanis, 2021; Zhang *et al.*, 2021). En específico, *Frankliniella fusca* Hinds, y *Thrips tabaci* Lindeman son vectores de IYSV. Por su parte, *F. fusca*, *F. occidentalis* Pergrande, *F. intosa* y *F. schultzei* (Trybom) son transmisores exclusivos de INSV (Oliver y Whitfield, 2016).

El comercio de material vegetal, la creciente globalización y el diminuto tamaño de los vectores junto a su alta tasa reproductiva; son factores que contribuyen en la dispersión de los virus (Bag *et al.*, 2015). Asimismo, su amplio espectro de plantas hospederas favorece su propagación. Estas actúan como reservorios para los patógenos y como fuentes de inóculo secundario para sus vectores (Aguiar, Alves, Querioz, Nascimento y Lima, 2018).

Los *Orthospovirus* tienen un amplio ámbito de hospederos. Se han reportado en cultivos de importancia agrícola, así como, en arvenses. En específico, IYSV principalmente está asociado con especies del género *Allium* (Gawande, Gurav, Ingle y Gopal, 2014), pero también se indican algunos hospederos alternos como *Chenopodium álbum*, *Eleusine indica*, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* y *Sonchus asper* (Linneo) (Karavina y Gubba, 2017; Nischwitz *et al.*, 2007; Sastry, Mandal, Hammond, Scott y Brinddon, 2019). Por otra parte, INSV tiene más de 300 especies de hospederos (Zhao *et al.*, 2018). Está asociado mayormente con plantas ornamentales como *Begonia* spp., e *Impatiens* spp. Se ha identificado en cultivos como *A. cepa*, *Capsicum annum*, *Solanum lycopersium* y *Phaseolus vulgaris* (Linneo). En arvenses como *Brassica rapa*, *Conyza bonariensis*, *Cyperus*



*esculentus*, *C. rotundus*, *Emilia sonchifolia* y *Sonchus oleraceus* (Linneo), entre otros (Cosmi, Marchesini y Martini, 2003; El-Wahab, El-Sheikh y Elnagar, 2011; Martínez-Ochoa, Mullis, Csinos y Webster, 2004; Mangli *et al.*, 2020; Okuda, Fuji, Okuda, Sako e Iwanami, 2010).

El contexto anterior demuestra la amenaza que representan ambos virus para el cultivo de cebolla, principalmente porque en Costa Rica dicho cultivo tiene un papel fundamental en la economía y seguridad alimentaria. Este cultivo anualmente aporta cerca de cuatro millones de dólares a la economía del país (Mora, 2020). Por todo esto, es importante realizar esfuerzos en cualquier nivel de la agro cadena. Por ello, lo anterior justifica la necesidad de determinar la presencia, incidencia y distribución de ambos *Orthospovirus*, así como, identificar las especies de trips asociadas al cultivo de cebolla en la zona de Zarcero. Esto permitirá establecer estrategias de manejo fitosanitario, con el propósito de reducir la propagación de los patógenos y evitar pérdidas económicas significativas.

## **1.2 OBJETIVOS**

### **1.2.1 Objetivo general**

Determinar la presencia, incidencia y distribución de los *Orthospovirus Impatiens necrotic spot orthospovirus* (INSV) e *Iris yellow spot orthospovirus* (IYSV), así como, identificar las especies de trips vectores (Thysanoptera: Thripidae) asociadas al cultivo de cebolla, en Zarcero, Costa Rica, mediante pruebas serológicas e identificación taxonómica, con la finalidad de implementar medidas de manejo fitosanitario y prevenir eventuales pérdidas económicas.

### **1.2.2 Objetivos específicos**

1. Determinar la presencia de los virus fitopatógenos INSV e IYSV en muestras foliares de cebolla, mediante la prueba serológica DAS-ELISA.
2. Determinar la incidencia y distribución de fincas con cultivo de cebolla positivas de INSV e IYSV en el cantón de Zarcero.
3. Identificar taxonómicamente las especies de trips (Thysanoptera: Thripidae) asociadas al cultivo de cebolla.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Importancia y generalidades del cultivo de cebolla

El cultivo de cebolla (*Allium cepa* Linneo) es la tercera hortaliza más producida y comercializada en el mundo, superada solo por la papa (*Solanum tuberosum* Linneo) y el tomate (*Solanum lycopersicum* Linneo). Para el ser humano es de interés por sus propiedades culinarias, farmacéuticas y nutricionales. Por ello, se cultiva en más de 175 países. Se estima una producción mundial por año superior a 78 millones Tm. China e India son líderes en producción con porcentajes de 28.7% y 20.3%, respectivamente (Bilal *et al.*, 2016, Teshika *et al.*, 2018).

En Costa Rica, el cultivo de cebolla participa significativamente en la economía y seguridad alimentaria. Durante el 2020 aportó el 0,9% del valor agregado de las actividades primarias del sector agropecuario, generando un valor bruto cercano a los cuatro millones de dólares (Mora, 2020). Asimismo, es una de las hortalizas más demandadas por los costarricenses, con consumos per cápita de 5.3 Kg (Programa Integral de Mercadeo Agropecuario [PIMA], 2016).

En el territorio nacional se cultivan cerca de 1181 ha de cebolla. El área de producción se concentra principalmente en tres regiones, el cantón de Cartago (637 ha) y Alvarado (103.4 ha) en la provincia de Cartago y en el cantón de Zarceró (103.4 ha) en Alajuela. En el país, en promedio los rendimientos rondan las 35 t/ha. Sin embargo, en el cantón de Zarceró se reportan reducciones en rendimiento y área con porcentajes de variación de hasta -3,0% durante los períodos 2017-2019 (Caravaca, 2020).

La cebolla pertenece a la familia botánica Amaryllidaceae. Es una planta de ciclo bienal, pero se cultiva anualmente debido a intereses comerciales. El bulbo es el órgano comercial, este puede variar en forma y color según variedades. Sus hojas son alternas, cilíndricas, huecas y están cubiertas por capas cerosas. Presenta un sistema radicular fasciculado. Por último, su inflorescencia es umbelada, con flores de color blanco (Bilal *et al.*, 2016; Teshika *et al.*, 2018).

El rendimiento del cultivo puede ser afectado por factores antropológicos, abióticos y bióticos. Las mermas principalmente son provocadas por bacterias, hongos, insectos y virus. Los insectos del orden Thysanoptera (“trips”) son la principal plaga del cultivo. En primer lugar, afectan a la planta al alimentarse del tejido foliar. Por medio de un estilete extraen los contenidos de las células, lo que a posterior afecta la actividad fotosintética. En segundo lugar, afectan a la planta de forma indirecta al ser vectores de fitopatógenos (Basri y Ansari, 2020; Raut, Pal, Wahengbam y Banu, 2020).

## **2.2 Orden Thysanoptera**

El orden Thysanoptera consiste aproximadamente de 6300 especies descritas (Mound y Cavalleri, 2021). Dividiéndose en dos subórdenes, Terebrantia y Tubulifera. El suborden Tubulifera se conforma de una sola familia, Phlaeothripidae, la cual alberga cerca de 3700 especies (Zhang, Mound y Feng, 2019). El suborden Terebrantia se conforma por ocho familias: Aeolothripidae, Fauriellidae, Heterothripidae, Melanthripidae, Merothripidae, Stenurothripidae, Thripidae y Uzelothripidae (Mound y Hastenpflug-Vesmanis, 2021).

Parte del interés en este orden de insectos se debe a que algunas especies son plagas de importancia agrícola. Estas en su mayoría pertenecen a la familia Thripidae (Mound, Wang, Lima y Marullo, 2022). También, algunas especies de esta familia en particular son relevantes desde un aspecto epidemiológico, debido a que son transmisores de virus, por ejemplo, virus del género *Orthospovirus* (Basri y Ansari, 2021; Raut *et al.*, 2020).

### 2.3 Biología y ecología de los tisanópteros

Comprender la biología, ecología y el comportamiento de los tisanópteros e insectos en general es crucial para implementar estrategias de manejo fitosanitario. Es importante entender que los insectos y más aún los vectores responden a señales emitidas por las plantas hospederas y por condiciones ambientales. Estas señales influyen directamente en el desarrollo temporal, la dispersión y propagación de los patógenos (Jeger, Chen, Powell, Hodge y van den Bosch, 2011).

Los trips son atraídos por características morfológicas y señales químicas específicas de las plantas hospederas (Montero-Astúa, Standfford-Banks, Badillo-Vargas, Ullman y Whitfield, 2016). Estas señales son percibidas por medio de las antenas, ojos y sensilas labiales. Prefieren hospederos cuyos colores se encuentran entre longitudes de ondas de 400 a 600 nanómetros (Reitz *et al.*, 2016; Somnath, Pratibha y Sanjeev, 2017). Asimismo, la inclinación por el color del hospedero puede variar incluso entre cultivares de una misma especie. En cebolla, por ejemplo, estudios sobre la preferencia de *T. tabaci* demuestran mayor atracción por follajes de coloración verdeazulada, en contraste a follajes verdes (Sigh y Cramer, 2019). En esta interacción, otras propiedades físicas de interés de las plantas son el grosor, la rugosidad, la cantidad de cera y el ángulo o espacio entre las hojas (Pacheco *et al.*, 2015). Por otra parte, la selección de un hospedero depende de sus propiedades químicas y nutricionales. Los trips perciben metabolitos primarios como carbohidratos y proteínas, los cuales influyen en las tasas de desarrollo, reproducción y ovoposición. No obstante, también perciben compuestos de defensa de la planta con acción de resistencia o repelencia. Por ejemplo, metabolitos secundarios como monoterpenos y alcaloides de pirrolizidina (Pacheco *et al.*, 2015; Reitz *et al.*, 2016).

La dispersión de los trips está relacionada con factores abióticos y bióticos. Factores intrínsecos como el comportamiento de vuelo influyen directamente en su desplazamiento. Los trips solo pueden volar a cortas distancias (pocos metros por día), sin embargo, viajan a largas distancias (varios kilómetros) por medio de corrientes de viento (Nyasani, Subramanian, Orindi, Poehling y Meyhofer, 2017; Smith, Shields y Nault, 2016). También, se ha evidenciado un tipo de foresis o transportación entre especies

de trips y abejas *Apis mellifera* Linneo. En el cual los trips se adhieren al cuerpo de las abejas para trasladarse entre distintos hospederos (Infante, Ortíz, Goldarazena y Sánchez, 2022). Por otra parte, el ser humano participa indirectamente en su traslado por medio de la comercialización de materiales vegetales (Bag *et al.*, 2015).

Los tisanópteros se reproducen de manera sexual como asexual, y tienen tres modos de reproducción, donde el sexo de la descendencia puede variar. Estos son: reproducción arrenotoquia (machos a partir de huevos sin fertilizar y hembras producidas de huevos fertilizados), deuterotoquia (machos y hembras producidos de huevos sin fertilizar) y telitoquia (solo hembras producidas de huevos sin fertilizar). Según el modo de reproducción pueden suceder variaciones en aspectos ecológicos como preferencia de hospederos e inclusive en la eficacia de transmisión de virus (Li, Fail, Wang, Feng y Shelton, 2014; Nault *et al.*, 2006).

Los trips tienen distintos hábitos alimenticios, pueden ser fungívoros, depredadores o fitófagos (Retana-Salazar y Rodríguez-Arrieta, 2016). Su aparato bucal es tipo “picador-chupador”, por lo cual mediante un estilete extraen los contenidos celulares. En cebolla, esto provoca síntomas cloróticos en las hojas. Además, durante el proceso de alimentación pueden transmitir fitopatógenos por medio de la saliva (He, Guo, Reitz, Lei y Wu, 2020; Marullo, Bongsinore y Vono, 2021).

#### **2.4 Metamorfosis y morfología de los tisanópteros**

Los trips presentan metamorfosis intermedia también denominada neometabolía. Se caracteriza porque los estados post embrionarios se asemejan al adulto morfológicamente. Durante las mudas solo se da un incremento en tamaño, y en adultos ocurre el desarrollo de alas (alados). Otro carácter singular de la metamorfosis intermedia es que presentan dos estados inactivos (prepupa y pupa). En específico, el ciclo de vida de los Terebrantia consiste de seis estados: huevo, dos instares larvales, prepupa, pupa y adultos (Truman y Riddiford, 2019).

En general, los huevos son estructuras microscópicas de forma arrañada y color blanquecino. Las larvas son de color blanquecino a amarillento, compuestas por ocho segmentos abdominales, ojos rojos y una longitud entre 0.35-0.38 mm y 0.7-0.9 mm, el primer y segundo instar larval respectivamente (Gill *et al.*, 2015). Las prepupas y pupas tienen una longitud promedio de 1.0 y 1.2 mm respectivamente, son blanquecinas, pero previo a la eclosión del adulto se tornan amarillentas (Patel, Pathak, Joshi y Siddhapara, 2012). Los adultos pueden ser ápteros o alados. El cuerpo en longitud oscila entre 0.3 a 1.4 mm y el color varía según la especie. Por último, las antenas pueden tener seis hasta nueve segmentos (Gill *et al.*, 2015; Goldarazena, 2015).

Los tisanópteros morfológicamente se diferencian del resto de insectos porque tienen alas “ciliadas” y asimetría bucal, presentando una mandíbula derecha subdesarrollada (Goldarazena, 2015). Los subórdenes Tubulifera y Terebrantia se diferencian en estados adultos por el décimo segmento abdominal y por la venación de las alas anteriores. Tubulifera carece de venas en las alas anteriores y tiene el último segmento abdominal en forma tubular. Por lo contrario, Terebrantia tiene venas en las alas anteriores y el décimo segmento antenal tiene una forma cónica (Cluever y Smith, 2017).

## **2.5 Ciclo de vida y comportamiento infectivo de los tisanópteros**

El ciclo de vida de los tisanópteros puede variar según temperaturas y hospederos (Ullman *et al.*, 2002). Por lo tanto, el párrafo siguiente describe el ciclo de vida de los trips (Thripidae) asociados al cultivo de cebolla, a partir de investigaciones desarrolladas bajo condiciones controladas.

Las hembras adultas introducen los huevos en los tejidos de las hojas por medio del órgano ovopositor (Reitz *et al.*, 2020). Estos son incubados por un período de 4-5 días. Luego de la eclosión, el primer y segundo instar larval, tienen periodos de transición de 2-3 y 3-4 días, respectivamente. Ambos estados se alimentan del tejido foliar. En caso de haberse alimentado de plantas infectadas de *Orthospovirus*, son estos estados los únicos capaces de adquirir el virus (Gill *et al.*, 2015). Las larvas al terminar su desarrollo se mudan a dos estadios ninfales (proninfa y ninfa) y luego se entierran en el suelo para

pupar. Estos son estados de latencia, por lo tanto, cesan la alimentación y permanecen inactivos por períodos entre 3-10 días. Sin embargo, los *Orthospovirus* se mantienen persistentes dentro del insecto. Concluido el estadio pupal, el adulto emerge y tiene un periodo de vida promedio de 28-30 días (Patel *et al.*, 2012). Solo los adultos que adquieren los *Orthospovirus* durante las etapas larvales, pueden transmitir el virus a nuevos hospederos durante el proceso de alimentación (Ullman *et al.*, 2002).

## **2.6 Trips vectores de *Orthospovirus***

Los insectos son los principales transmisores de virus fitopatógenos. Estos pueden no sólo ejercer como vectores, sino también como hospederos (Kolliopoulou, Kontongiannatos y Swevers, 2020). Esta cualidad se presenta cuando existe una relación entre proteínas específicas del vector y del patógeno (Ghosh y Ghanim, 2021). En particular, los *Orthospovirus* son transmitidos por los trips por un modo de transmisión denominado “persistente-propagativo”. Modo que permite al virus replicarse y persistir viable dentro del insecto durante el resto de etapas de desarrollo (Rotenberg *et al.*, 2015).

Los *Orthospovirus* son transmitidos solo por trips de la familia Thripidae. Familia compuesta por 2180 especies (Mound y Hastenpflug-Vesmanis, 2021). Sin embargo, sólo 15 especies son vectores, de éstas, *F. fusca* y *T. tabaci* son los únicos vectores de IYSV (Srinivasan *et al.*, 2012). Por otra parte, *F. fusca*, *F. intosa*, *F. occidentalis* y *F. schultzei* son vectores exclusivos de INSV (Kuo *et al.*, 2014; Oliver y Whitfield, 2016).



El sexo del vector es relevante en la eficiencia de transmisión de los *Orthospovirus*. Por ejemplo, en la especie *F. occidentalis* los machos, a diferencia de las hembras, son más eficientes para transmitir el “tomato spotted wilt orthospovirus” (TSWV). Se presume que esta cualidad está presente en otras especies de *Orthospovirus*. La desigualdad de transmisión del virus se debe a distintos hábitos alimenticios entre sexos. Las hembras son más agresivas al alimentarse debido a requerimientos nutricionales, estas penetran más profundo el mesófilo, extrayendo los contenidos celulares y provocando la muerte celular, por ende, se limita el traslado del virus entre células adyacentes. Por el contrario, los machos solo perforan las primeras capas del mesófilo (Ogada y Poehling, 2015).

## **2.7 Virus fitopatógenos del género *Orthospovirus***

Los virus fitopatógenos son parásitos intracelulares que se hospedan y afectan células vegetales, aunque también se pueden albergar y replicarse en las células de sus vectores. Requieren del hospedero porque carecen de ribosomas, por ende, no tienen la capacidad de sintetizar proteínas. Para ello, “secuestran” la maquinaria celular de sus hospederos para sintetizar energía metabólica y su posterior replicación (Cann, 2016; Zhao *et al.*, 2016).

El género *Orthospovirus* pertenece a la familia *Tospoviridae*, orden *Bunyavirales*. Los *Orthospovirus* son los únicos virus fitopatógenos de la familia *Tospoviridae*, la cual está asociada principalmente a células animales (Holkar, Mandal, Reddy y Jain, 2019). Cualidad que tiene relación con la interacción y evolución con sus vectores. Como se indicó anteriormente, estos virus solo son transmitidos por trips de la familia Thripidae. Su modo de transmisión es persistente y propagativo. Es decir, cuando el vector adquiere las partículas virales, estas se replican en sus células y pueden permanecer en su interior por el resto de su ciclo de vida (Rotenberg *et al.*, 2015).

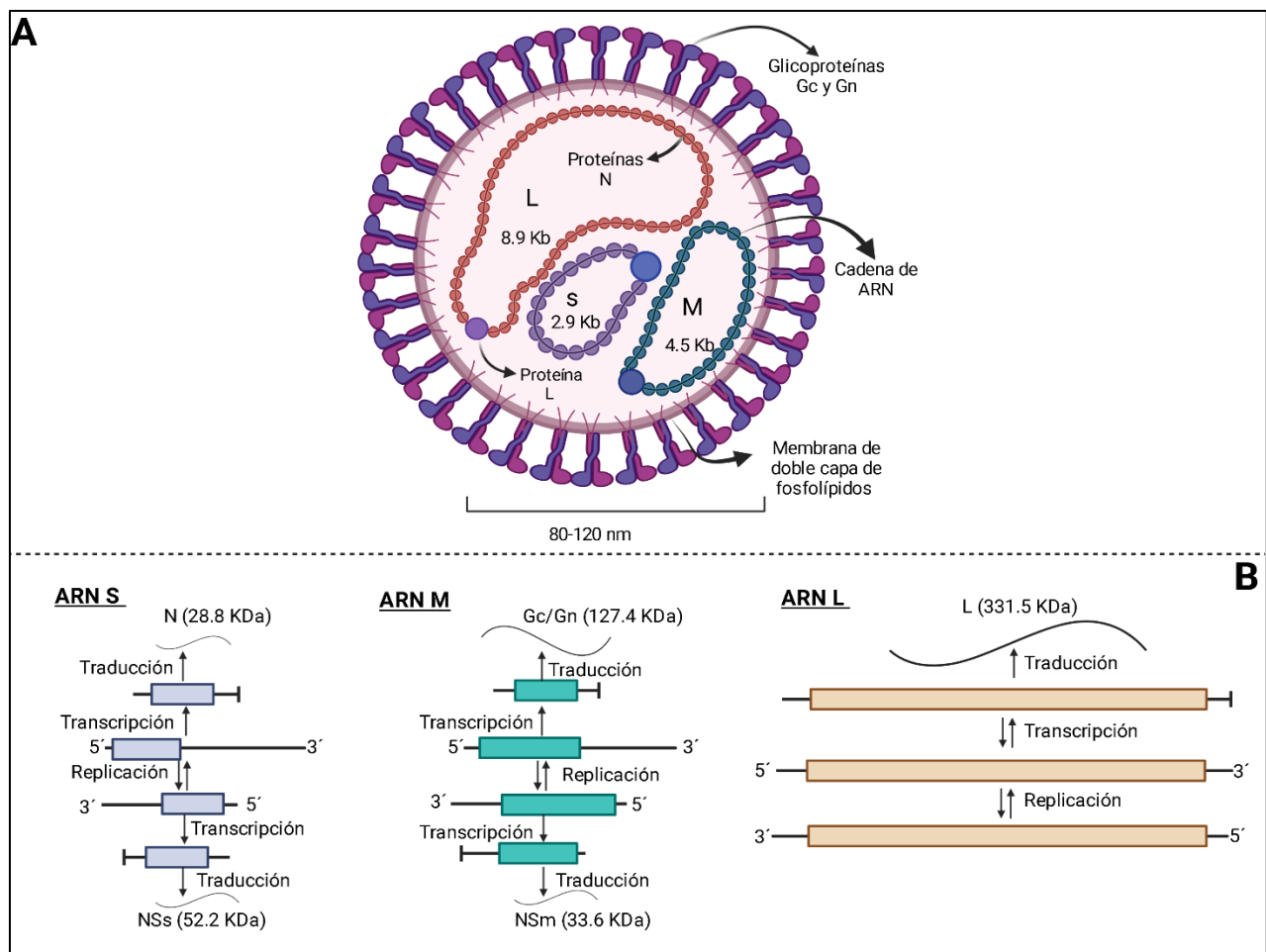
Los *Orthospovirus* se clasifican según distintos criterios, estos son: la morfología y la organización del genoma, la especificidad con el/los vectores, el rango de hospederos y la serología de los anticuerpos de la proteína nucleocápside (N) (Chen *et al.*, 2016; Zheng *et al.*, 2020). Una especie es distinta cuando en un aislamiento los aminoácidos que conforman la proteína N tienen menos de un 90,0% de similitud, con relación a otras especies del género (Oliver y Whitfield, 2016). En cierto grado esto ha permitido el desarrollo de anticuerpos policlonales específicos que detectan la proteína N, y mediante el uso de técnicas serológicas se ha facilitado el diagnóstico de distintas especies de *Orthospovirus* (Nekoduka, Kobayashi, Fuji, Okuda y Sano, 2015).

En total, el género *Orthospovirus* se conforma de 26 especies (Kunh *et al.*, 2021). De éstas, solo tres se han detectado en el cultivo de cebolla. En específico, INSV, IYSV y TSWV (Mangli *et al.*, 2020; Mansouri *et al.*, 2021). En Costa Rica, recientemente se ha detectado por primera vez en el cultivo de cebolla la presencia de INSV e IYSV (Dejuk-Protti, 2015; Montero-Astúa *et al.*, 2017). Ambos virus son especies de importancia agrícola, por ello, es importante investigar desde una perspectiva científica y socioeconómica.

## **2.8 Estructura y organización del genoma de *Orthospovirus***

La partícula viral del género *Orthospovirus* es esférica con un diámetro entre 80 a 120 nm. Está compuesta por lípidos, carbohidratos y principalmente por cadenas simples negativas de ácido ribonucleico (ARN). La partícula está envuelta por una membrana de fosfolípidos que deriva del hospedero y por las glicoproteínas Gn y Gc (Karavina y Gubba, 2016; Oliver y Whitfield, 2016).

El genoma de las especies del género *Orthospovirus* está segmentado, en específico, se conforma por tres segmentos, estos son: largo (L), mediano (M) y pequeño (S). Los segmentos se denominan según el tamaño del genoma, el segmento L tiene un tamaño de 8.9 Kb, el M 4.5 Kb y el S 2.9 Kb (Karavina y Gubba, 2016). Cada segmento codifica proteínas específicas, las cuales tienen un papel importante en la infección o replicación del virus (Figura 1A).



**Figura 1.** Estructura y organización del genoma de los *Orthospovirus*. A) partícula viral de un *Orthospovirus* envuelta por una membrana de fosfolípidos que interactúa con las glicoproteínas Gc y Gn. Dentro de la membrana se encuentran los tres segmentos de ARN: L = largo, M = mediano y S = pequeño. Cada cadena de ARN contiene una proteína L o RdRp, y estas cadenas están encapsuladas

por proteínas N formando complejos de ribonucleoproteínas. B) organización del genoma segmentado de los *Orthospovirus*. En el segmento S, se codifican las proteínas N y NSs en sentido viral y viral complementario, respectivamente. En el segmento M, se codifican las proteínas Gc y Gn en sentido viral, y la proteína Nsm en viral complementario. El segmento L codifica la proteína “L” en sentido viral.

Fuente: elaboración propia, basado en Montero-Astúa *et al* (2016) y, Oliver y Whitfield (2016).

Creado con: Biorender.com

El segmento L codifica las proteínas en sentido negativo y lo realiza con un solo marco de lectura (ORF, “*Open reading frame*”) en sentido viral complementario. Este segmento sintetiza la proteína ARN polimerasa dependiente de ARN (RpRd), también denominada proteína “L” (Figura 1B) (Zheng *et al.*, 2020). Esta proteína se encarga de replicar el genoma de los virus compuestos por ARN (Di carli, Benvenuto y Donini, 2012).

El segmento M posee dos ORF, el primero codifica las proteínas no estructurales de movimiento (NSm) en sentido viral, el segundo ORF codifica las glicoproteínas Gn y Gc en sentido viral complementario (Figura 1B) (Montero-Astúa *et al.*, 2016). La función de la proteína NSm es transportar las partículas virales entre células adyacentes del hospedero, por medio de los plasmodesmos (Wu *et al.*, 2019). Por su parte, las glicoproteínas Gn y Gc son responsables por la adquisición y transmisión del virus por parte de los trips (Zhang *et al.*, 2021).

El segmento S al igual que el M, codifica dos ORF en sentido ambisense, es decir, codifican en sentido viral y viral complementario. El primer ORF codifica proteínas no estructurales “NSs” en sentido viral, el segundo ORF codifica la proteína estructural nucleocápside (N) en sentido viral complementario (Figura 1B) (Zheng *et al.*, 2020). La función de la proteína NSs es silenciar la expresión de genes de resistencia de la planta hospedera y del vector (Wu *et al.*, 2019). La proteína N encapsula las cadenas de ARN para protegerlas, además, interacciona con las proteínas L para formar complejos de ribonucleoproteínas (Komoda, Narita, Yamashita, Tanaka y Yao, 2017).

## 2.9 Interacción trips-*Orthospovirus*-hospedero

Los trips en estados larvales adquieren los *Orthospovirus* durante el proceso de alimentación. Cuando insertan el estilete en tejidos infectados succionan partículas virales. Estas viajan a través del canal alimenticio hacia la región anterior del intestino medio (He *et al.*, 2020). El intestino medio reconoce las partículas virales de los *Orthospovirus* mediante receptores específicos en sus células epiteliales, los cuales interactúan con las glicoproteínas Gc y Gn (Rotenberg *et al.*, 2015; Whitfield, Falk y Rotenberg, 2015). Este es el sitio donde inicia la replicación viral. Luego, las partículas virales se movilizan del intestino medio hacia las glándulas salivares, mediante unos tejidos que conectan ambos órganos (Montero-Astúa *et al.*, 2016). En las células de las glándulas ocurre la mayor tasa de replicación viral. Posteriormente, el virus es transmitido a un nuevo hospedero por medio de la saliva, cuando el insecto se alimenta de los tejidos de la planta (Rotenberg *et al.*, 2015).

Solo adultos que adquirieron el virus durante la etapa larval son vectores eficaces. Diversas teorías se han planteado para explicar por qué sucede esto. La primera, menciona que en estados larvales las glándulas salivares y el intestino medio están en contacto y conectados por tejidos. Por lo contrario, en adultos durante la metamorfosis las glándulas salivares se desplazan y alejan del intestino medio. Al no estar conectados ambos órganos, las partículas virales se dirigen del intestino medio hacia los tubos de malpighi, y posteriormente se presume son excretadas (Moritz, Kumm y Mound, 2004). La segunda, plantea que en adultos luego de adquirir las partículas virales, estas se acumulan en el lumen y las células epiteliales del intestino medio. Sin embargo, una barrera conformada por las mismas células impide su traslado hacia la hemolinfa y posteriormente a otros órganos. Luego, se especula que las partículas virales que se almacenaron en las células del intestino medio son degradadas (Ullman, Cho, Mau, Westcot y Custer, 1992).

Los *Orthospovirus* además tienen la capacidad de modificar distintos hábitos de sus vectores, esto con la finalidad de promover su transmisión y sobrevivencia (Wu *et al.*, 2019). Se ha determinado que plantas infectadas por TSWV son más atractivas para sus vectores, con relación a plantas sanas (Maris, Joosten, Golbach y Peters, 2004), por lo que, en plantas infectadas habitan mayor número de individuos y suelen presentar mayor incidencia de daños (Tomitaka, 2019). Estos virus pueden influir en los ciclos de vida, los trips infectados por IYSV en promedio viven hasta tres días más que aquellos que no son portadores del virus. Esto influye en la tasa de ovoposición de las hembras, por ende, en la abundancia de trips (Leach, Fuchs, Harding y Nault 2019).

Las células vegetales tienen barreras físicas y químicas que actúan como mecanismos de defensa contra patógenos, sin embargo, los trips mediante la fuerza mecánica ejercida por el estilete penetran la pared celular, facilitando el acceso de partículas virales. A pesar de esto, las células vegetales utilizan otros mecanismos de defensa para evitar la invasión y multiplicación de patógenos (Di Carli *et al.*, 2012). Para combatir virus compuestos por ARN sintetizan moléculas de ARN de interferencia (ARNi), las cuales silencian la expresión de genes virales (Hernández-Soto, Echeverría-Beirute y Guzmán-Hernández, 2021). Sin embargo, los *Orthospovirus* codifican proteínas NSs que suprimen las moléculas de ARNi, por lo que les permite sobrepasar un mecanismo de defensa específico (Oliver y Whitfield, 2016).

Las proteínas NSs además interfieren con la resistencia sistémica inducida (RSI). La RSI es un mecanismo de defensa. Se basa en el reconocimiento de estímulos extracelulares, los cuales son reconocidos por receptores en las células. Estos estímulos inducen a una respuesta, generando un aumento en la expresión de genes de resistencia contra patógenos. La expresión de estos genes está regulada por la señalización del ácido jasmónico y del etileno (Samaniego-Gámez, Reyes-Ramírez, Moreno-Valenzuela y Tun-Suárez, 2017). En específico, el ácido jasmónico está asociado a la síntesis de metabolitos secundarios que les confieren resistencia a las plantas ante el ataque de trips (Cheng, Klinkhmer, Escobar y Leiss, 2018). No obstante, la proteína NSs de los *Orthospovirus* interviene directamente con el factor de transcripción MYC2 (factor que regula diferentes vías de señalización

de fitohormonas), por ende, suprime la síntesis del ácido jasmónico, reduciendo así los compuestos volátiles que participan en la defensa (repelencia) contra el ataque de trips (Wu *et al.*, 2019).

El virus luego de ingresar en la planta necesita replicarse para asegurar su supervivencia y propagación. Por ende, requiere “secuestrar” las células de sus hospederos, para sintetizar sus propias proteínas y replicar su genoma (Zhao *et al.*, 2016). La replicación del genoma viral se produce en el citoplasma por acción de la proteína RpRd. Esta actúa como una enzima replicasa, sintetizando el ARN viral a partir de segmentos de ARNm que secuestra de las células del hospedero. Además, ejerce de enzima polimerasa, sintetizando el ARNm en proteínas funcionales. Esta irrupción en el genoma del hospedante, no solo altera el metabolismo de ARN sino también de ADN, afectando la expresión y codificación de genes del hospedante (Hopkins y Cherry, 2013; Oliver y Whitfield, 2016).

Las afectaciones por virus fitopatógenos ocasionan alteraciones en la expresión y codificación de genes. Estos cambios producen la aparición de síntomas y posteriores daños. El cloroplasto es la principal organela afectada por patógenos virales. Se presume que esto es debido a procesos evolutivos entre los cloroplastos y los virus, ya que se ha encontrado similitud entre ambos genomas (Bhattacharyya y Chakraborty, 2019). Por lo tanto, una infección viral conlleva la aparición de síntomas cloróticos. No obstante, existe un desencadenamiento de alteraciones fisiológicas en los cloroplastos previo a la aparición de síntomas. Estas alteraciones son: cambios en la estructura y funciones de los cloroplastos, disminución en la eficiencia de los fotosistemas, malformaciones de los cloroplastos, supresión en la codificación de genes relacionados con los cloroplastos y la fotosíntesis, desbalances en la acumulación de fotoasimilados, acoplamiento de componentes virales con factores de los cloroplastos y una reducción en la pigmentación y fluorescencia de la clorofila (Abdelkhalek, Qari y Hafez, 2018; Zhao *et al.*, 2016).

En resumen, los *Orthospovirus* inducen cambios en los hábitos de los vectores, así como, alteraciones negativas en la fisiología y morfología de la planta huésped. Repercutiendo así en el rendimiento de los cultivos agrícolas.

## 2.10 Sintomatologías y daños en cebolla ocasionados por INSV e IYSV

El desarrollo de un síntoma ocasionado por un virus varía según condiciones ambientales, la especie de la planta hospedera e incluso entre cultivares (Almasi y Almasi, 2018). Asimismo, se pueden presentar plantas asintomáticas. El IYSV produce manchas cloróticas alargadas y secas, las cuales se sobreponen afectando mayor área foliar. Las manchas se encuentran principalmente en la parte media y baja de la hoja, esto la debilita ocasionando un decaimiento en la punta (Gent *et al.*, 2006; Ramírez-Rojas *et al.*, 2016). También, esporádicamente ocasiona un síntoma singular, esto son anillos cloróticos los cuales asemejan una apariencia de diamante (Bag *et al.*, 2015). INSV se ha detectado en el cultivo de cebolla (Mansouri *et al.*, 2021). Sin embargo, la relación entre este cultivo y patógeno en particular carece de investigación descriptiva sobre sus síntomas. En general, en otros cultivos los síntomas de INSV son puntos y/o anillos cloróticos y necróticos, moteados y mosaicos (Zhao *et al.*, 2018). Estos síntomas ocasionan una reducción de los pigmentos de clorofila, por ende, una merma en la actividad fotosintética, resultando en una disminución del tamaño y peso del bulbo, provocando pérdidas en los rendimientos.

En agricultura el concepto de daño está asociado a pérdidas económicas. Debido a ello, IYSV se considera el principal patógeno viral que afecta el cultivo de cebolla. En algunas regiones del mundo se han descrito epidemias, debido a su amplia distribución y altos porcentajes de incidencia (Abdelkhalek *et al.*, 2018; Leach, Fuchs, Harding, Schmidt-Jeffris y Nault, 2019). En cebolla los daños ocasionados por IYSV se reportan en los cinco principales continentes (Mou *et al.*, 2020). En España, se mencionan pérdidas en rendimiento del bulbo entre 50,0-60,0% (Muñoz *et al.*, 2014). En Zimbabwe, en siembras de bulbo, se indican incidencias entre 26,0-78,0%, y se especulan pérdidas cercanas al 50,0% (Karavina y Gubba, 2016). En México, en producciones de bulbo se reportan incidencias del 100% con porcentajes de severidad superiores al 90,0% (Ramírez-Rojas *et al.*, 2016). En Estados Unidos, en siembras de bulbo, en el estado de Colorado durante el año 2003 incidencias de hasta un 76,0% ocasionaron pérdidas equivalentes a cinco millones de dólares. En Australia,



epidemias en producciones de bulbo, en la ciudad de Perth en el año 2002, provocaron el abandono de los cultivos (Gent *et al.*, 2004; Coutts *et al.*, 2003). En Brasil, en siembras de bulbo como de semilla botánica, se reportan incidencias del 100%, y como resultado la pérdida total (Pozzer *et al.*, 1999).

Por su parte, INSV se ha detectado en cebolla, sin embargo, se carece de reportes sobre daños en el cultivo, a pesar de ser un patógeno que tiene suma relevancia epidemiológica. En Estados Unidos, se ha reportado afectando cultivos como *Lactuca sativa* Linneo, *Rubus* spp., y *S. tuberosum*, con porcentajes de incidencia de hasta 27,0%, 33,0% y 50,0% respectivamente (Crosslin y Hamlin, 2010; Kuo *et al.*, 2014; Tzanetakis, Guzmán-Baney, van Esbroeck, Fenandez y Martin, 2009). No obstante, el INSV es un virus principalmente asociado a plantas ornamentales (Zhao *et al.*, 2018), donde puede provocar pérdidas en un 100% de (Smirnova *et al.*, 2016). En Japón, una epidemia en el año 2007 afectó cultivos de *Gentiana* spp., provocando la pérdida de 74 000 plantas (Nekoduka *et al.*, 2015). En Estados Unidos, se reportan la pérdida de más de 30 000 plantas de *Begonia* spp., incluso el abandono de cultivos de gloxinias (*Sinningia* spp.) (Daughtrey, Jones, Moyer, Daub y Baker, 1997).

## 2.11 Hospedantes de INSV e IYSV

Los hospederos tienen relevancia epidemiológica en la propagación de los virus, ya que estos funcionan como reservorios que luego interactúan como fuentes de inóculos secundarios para los vectores (Aguiar *et al.*, 2018). Una planta es hospedera cuando existe una interacción compatible entre el microorganismo y la planta susceptible. Esta relación depende de factores virales y celulares, los cuales le permiten al virus completar su ciclo de infección (Morris y Moury, 2019).

El INSV posee más de 300 especies de plantas hospederas (Zhao *et al.*, 2018). Sus hospederos principales son plantas ornamentales. Por ejemplo: *Alstroemeria* spp., *Anthurium* spp., *Begonia* spp., *Impatiens* spp. También, se ha detectado en cultivos como: *Allium cepa*, *Apium graveolens*, *Beta vulgaris*, *C. annuum*, *L. sativa*, *Ocimum basilicum*, *Spinacia oleracea*, *S. lycopersium*, *S. tuberosum* y *P. vulgaris* (Linneo). En arvenses como: *B. rapa*, *Capsella bursa-pastoris*, *C. bonariensis*, *C. esculentus*, *C. rotundus*, *E. sonchifolia*, *S. oleraceus*, *Portulaca oleracea* y *Veronica arvensis* (Linneo) (Cosmi *et al.*, 2003; El-Wahab *et al.*, 2011; Ghotbi, 2013; Kuo *et al.*, 2014; Martínez-Ochoa *et al.*, 2004; Mangli *et al.*, 2020; Okuda *et al.*, 2010; Tian, Zheng, Chintaluri y Meng, 2013).

Por otra parte, el IYSV está asociado principalmente a especies de plantas del género (Gawande *et al.*, 2014). Aunque también, se ha detectado en arvenses como: *Amaranthus retroflexus*, *A. hybridus*, *A. spinosus* (Linneo), *Arctium minus* Hill, *Atriplex micrantha* Ledeb, *C. album*, *Cichorium intybus*, *Datura stramonium*, *E. indica*, *Lactuca serriola* (Linneo), *Nicotiana benthamiana* Domin, *Setaria viridis*, *S. asper*, *T. officinale*, *Tribulus terrestris* y *R. crispus* (Linneo) (Cortês, Livieratos, Derks, Peters y Kormelink, 1998; Evans *et al.*, 2009; Gent *et al.*, 2006; Hsu, Hoepfing, Fulch, Shelton y Nault, 2010; Karavina y Gubba, 2017; Nischwitz *et al.*, 2007; Smith, Ditommaso, Fuchs, Shelton y Nault, 2011; Sampangani, Mohan y Pappu, 2007, Sastry *et al.*, 2019).

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Fase de campo**

##### **3.1.1 Localización y descripción del área de estudio**

La investigación se realizó en el cantón de Zarcero de la provincia de Alajuela, ubicado en las coordenadas geográficas 10° 13' 13" N y 84° 25' 06" O. La zona de Zarcero corresponde a la formación ecológica bosque húmedo montano bajo (bh-MB) (Bolaños, Watson y Tosi, 2005). En la región el promedio altitudinal ronda los 1765 m s.n.m. La temperatura promedio oscila los 17 °C, precipitaciones anuales con variaciones entre 1500-3000 mm, distribuidas entre los meses de mayo a diciembre. Humedad relativa promedio 86,0% y un predominio de suelos pertenecientes al orden Andisol (Ministerio de Agricultura y Ganadería [MAG], s. f.).

##### **3.1.2 Muestreo y diagnóstico de fincas**

Se realizaron muestreos en los distritos de Guadalupe, Laguna, Palmira, Tapezco y Zarcero del cantón de Zarcero. En total se muestrearon 26 sistemas productores de cebolla, 14 fincas durante la estación seca (febrero-marzo), 11 fincas y 1 sistema de producción de almácigos en estación lluviosa (julio-diciembre). Se realizó un único muestreo por finca y por temporada, por ende, no se tomaron criterios de selección y las muestras se recolectaron independientemente de la variedad, manejo y edad del cultivo.

Por cada sistema se realizó un registro técnico para establecer un diagnóstico breve. Se realizaron entrevistas a los propietarios o encargados de los mismos, en el cual se solicitaron datos como variedad, edad del cultivo, prácticas culturales, aplicación de insecticidas, diversificación y rotación del cultivo. Además, con un teléfono móvil y mediante una aplicación (GPS Test versión 1.6.3) se tomaron las coordenadas geográficas de cada sistema.

### **3.2 Fase de laboratorio**

El análisis de muestras para la detección de los *Orthotospovirus* INSV e IYSV se realizó en el laboratorio de Fitopatógenos Obligados y sus Vectores (LaFOV) del Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular (CIBCM) de la Universidad de Costa Rica. El montaje e identificación a nivel de especie de trips se realizó en el Laboratorio de Entomología de la Universidad Nacional.

### **3.3 Detección de *Orthotospovirus***

#### **3.3.1 Recolección y preparación de muestras**

La recolecta de muestras de cebolla fue aleatoria. Se recorrió en zig-zag el área total de cada parcela y se establecieron 10 puntos de muestreo distribuidos en el trayecto. Por cada punto se seleccionó una planta al azar para la recolecta de muestras de tejido foliar. Cada una de las 10 muestras de cebolla se conformó por dos hojas internas de la planta, es decir, las más jóvenes, esto porque es el sitio con mayor probabilidad para detectar el virus (Smith, Wylie, Coutts y Jones, 2006). Además, se recolectaron muestras de arvenses, un promedio de tres especies distintas por finca. Estas se identificaron en campo y luego se corroboró su identificación con un experto. Las muestras de arvenses se seleccionaron conforme a distintos criterios establecidos por un orden jerárquico. Con mayor atención se recolectaron las plantas con sintomatología viral, luego se muestrearon arvenses reportadas como hospederas de INSV o IYSV y como último criterio las arvenses con mayor presencia en la parcela. Cabe destacar que las muestras se tomaron con el uso de una tijera de podar previamente desinfectada con una solución compuesta por amonio cuaternario o etanol al 70%, como medida de inocuidad para evitar contaminación cruzada.

Cada muestra de cebolla y de arvenses se almacenaron individualmente en bolsas herméticas (17,7 cm x 19,5 cm), a las cuales se les asignó un código con información referente a la finca. Las muestras vegetales se transportaron hasta el laboratorio dentro de una hielera. En el laboratorio se realizó un registro fotográfico de cada muestra. Luego, se seleccionaron varios trozos de 3,0 mm

aproximadamente por muestra. En el caso de las muestras de cebolla se priorizó en el tejido con índole viral, de no presentar síntomas, se realizaron cortes de la parte basal de las hojas (Smith *et al.*, 2006). Las muestras de arvenses de igual manera se priorizaron las áreas con algún indicio viral, de no presentar, se realizó un conglomerado entre tejido foliar y de las partes florales (en caso de tener floración). Por último, las muestras se almacenaron en bolsas herméticas (5,5 cm x 6,0 cm) y se congelaron a -36 °C hasta su procesamiento.

### **3.3.2 Extracción de las muestras**

Para extraer cada muestra (posibles antígenos) se pesó 100 mg de los trozos de tejido foliar, previamente cortados y congelados. Después, se maceró los 100 mg en un molidor de rodillos y durante este proceso con una micropipeta se agregó 1 mL de *buffer* general de extracción (BGE) (1X) (1,30 g de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 20,0 g de polivinilpirrolidona (PVP) MW 24-40.000, 2,0 g de albúmina de suero bovino en polvo y 20,0 g de TWEEN 20, ajustado a un pH de 7,4) diluido en un 1 L de *buffer* fosfato salino más 0,05% de TWEEN 20 (BFST) (1X) (8,0 g de NaCl, 1,15 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,20 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,20 g de KCl y 0,05 g de TWEEN 20, ajustado a 1,0 L de agua destilada y un pH de 7,4). La solución resultante del proceso de maceración se recolectó en tubos de microcentrifugación de 1,5 mL previamente codificados. Las muestras preparadas se almacenaron a temperaturas de -36 °C hasta su procesamiento.

### **3.3.3 Prueba serológica DAS-ELISA**

El procedimiento del ensayo de inmunoabsorbancia ligado a enzimas tipo “Sándwich” (DAS-ELISA, por sus siglas en inglés) se realizó en un periodo de tres días continuos (por placa), siguiendo los protocolos de la casa comercial Agdia (Elkhart, IN, USA). Durante el primer día se prepararon dos placas de microtitulación de poliestireno de 96 pozos para el análisis de INSV e IYSV, respectivamente. Por cada pozo, a excepción de los pozos blancos, se adicionó 100 microlitros (µL) del anticuerpo de captura, antes centrifugado durante 10 segundos a 10000 Rpm, luego se diluyó

1:1000 en *buffer* de carbonatos (1X) (2,39 g de NaHCO<sub>3</sub> y 1,59 g de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, a un pH de 9,4, ajustado a un volumen de 1,0 L agua destilada). Después, las placas se incubaron en una caja húmeda y estas se almacenaron en un refrigerador a una temperatura de 4,0 °C durante 12 horas (Figura 2A y 2B).

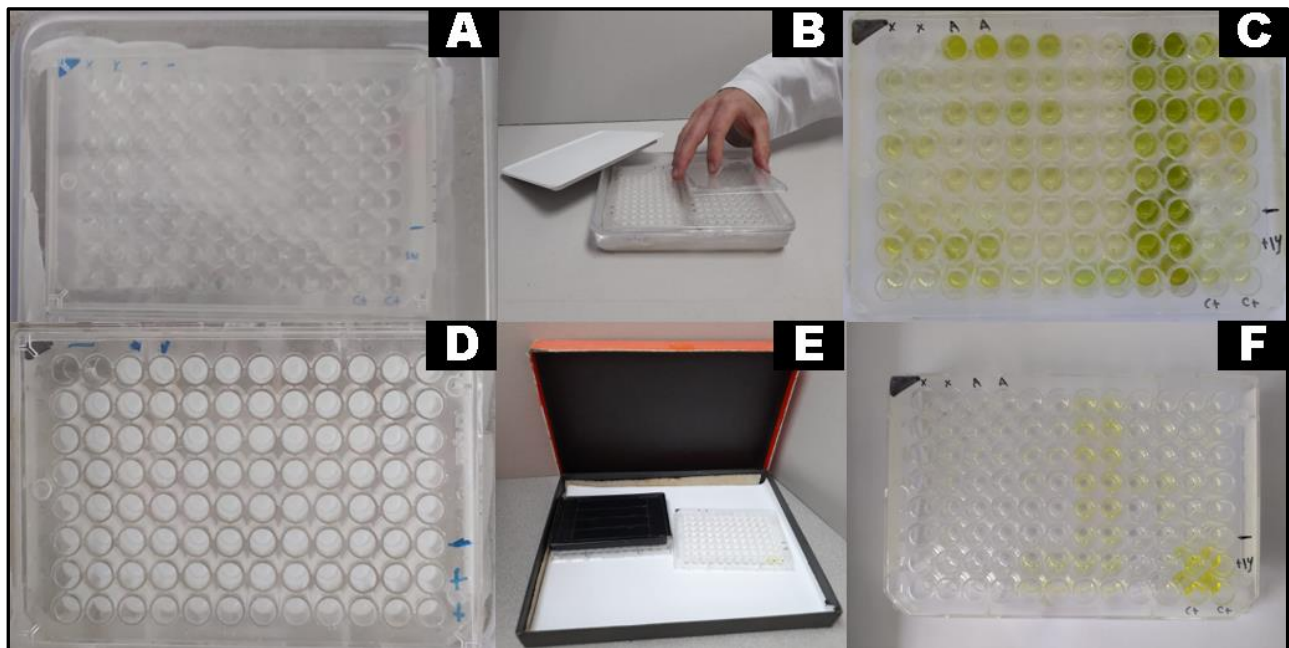
En el segundo día se eliminó el contenido de las placas y se les realizó tres lavados con BFST (1X). Luego, se secaron las placas golpeándose contra una toalla de papel. Después, se añadieron 100 µL de los controles positivos por cada pozo respectivo (dos pozos) y 100 µL de controles negativos (cuatro pozos). Exceptuando los pozos en blanco y los controles se agregó al resto de pozos 100 µL de la solución de las muestras maceradas (antígenos), antes centrifugadas durante 10 segundos (para precipitar los residuos de tejido foliar). Para ello, se usó una hoja guía de las placas a montar. Las muestras fueron analizadas por duplicado e incubadas en una caja húmeda y se almacenaron en un refrigerador a una temperatura de 4,0 °C durante 24 horas (Figura 2C).

Durante el tercer día se vertió el contenido de las placas y se realizaron ocho lavados con BFST (1X). Luego, se secaron las placas y a excepción de los pozos en blanco, se agregó al resto de pozos 100 µL del anticuerpo conjugado (conjugado de enzimas alcalino fosfatasa) diluido en una relación 1:1000 en *buffer* conjugado (1,0 L BFST (1X), 2,0 g de albúmina de suero bovino, 20,0 g de PVP MW 24-40.000 más de 5,0% (V/V) de leche bovina deslactosada en polvo, ajustado a un pH de 7,4). La leche se utilizó con la finalidad de bloquear y remover sustancias que no se unieron a la placa de pozos, esto para evitar reacciones de falsos positivos y asegurar resultados confiables (Smith *et al.*, 2006). Las placas y el contenido se incubaron en una caja húmeda a temperatura ambiente durante dos horas (Figura 2D).

Concluido el período de incubación se eliminó el contenido de las placas y se realizaron ocho lavados con BFST (1X). Luego, a todos los pozos se les adiciono 100 µL de de sustrato (pastilla de 5,0 mg de para-nitrofenil-fosfato (pNPP)) diluido a razón de 1mg/mL en *buffer* sustrato (0,10 g Cl<sub>2</sub>H<sub>12</sub>MgO<sub>6</sub> y 97 ml de C<sub>4</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>, a un pH de 9,8, en un volumen de 1,0 L de agua destilada). En muestras positivas el sustrato reacciona generando una coloración amarilla. Las placas se incubaron en una caja húmeda

a temperatura ambiente y se almacenaron dentro de una caja oscura (para evitar la exposición a la luz). Por último, las placas se almacenaron dentro de la caja hasta las respectivas lecturas de absorbancia (Figura 2E).

Adicional a los objetivos planteados en esta investigación, debido a un interés epidemiológico y científico, se realizó el análisis de los *Potyvirus* (*Patatavirales: Potyviridae*) “leek yellow stripe virus” (LYSV) y “onion yellow dwarf virus” (OYDV) mediante pruebas serológicas DAS-ELISA. Utilizando la metodología antes descrita, se analizaron 108 muestras de cebolla y 33 de arvenses, las cuales correspondieron a una muestra representativa del total recolectadas (Anexo 1).



**Figura 2.** Proceso general del ensayo de inmunabsorbancia ligado a enzimas tipo sándwich (DAS-ELISA). A) placa de micro titulación luego de la adición de los anticuerpos de captura. B) placas de micro titulación en cámara húmeda. C) placa de micro titulación con los antígenos y los controles positivos y negativos. D) placa de microtitulación con el anticuerpo conjugado. E) placas de micro titulación, luego de añadir el sustrato. E) reacción positiva del sustrato (coloración amarilla).

### **3.3.4 Análisis en laboratorio**

Para la lectura de absorbancia de las placas se utilizó un espectrofotómetro (Thermo Scientific, Multiskan FC, Estados Unidos) y por medio del software SkanIT 6.1 se ajustó la lectura a una absorbancia de 405 nm. Se realizaron lecturas a los 30, 60 y 120 min; luego de adicionar el sustrato. Como criterio para confirmar muestras “positivas” se utilizó un umbral cuantitativo. Una muestra se consideró positiva si los valores de absorbancia del promedio de cada muestra duplicada, eran mayores al doble del promedio del resultado de absorbancia obtenido de los cuatro pozos de control negativo (Muñoz *et al.*, 2014; Sutula, Gillet, Morrisey, y Ramsdell, 1986). Por lo contrario, si el valor de las muestras era inferior al doble del promedio de los negativos, se consideró como “negativas”. Asimismo, se calculó el coeficiente de variación (CV) del promedio de cada duplicado de las muestras, esto para corroborar la veracidad de los datos. Por lo tanto, resultados con un CV superior al 20,0% fueron descartados, por ende, se repitió la prueba hasta obtener CV inferiores al 20,0%, debido a que valores superiores a dicho porcentaje son indicadores de resultados inconsistentes o errores.

### **3.4 Determinación incidencia y distribución de *Orthospovirus***

Para determinar la distribución se consideró como “fincas positivas” aquellas en las cuales se obtuvo al menos una muestra positiva para INSV o para IYSV. Se contempló una incidencia a nivel de finca a razón del total de las muestras tomadas de forma aleatoria. El cálculo de proporción para determinar ambas incidencias se realizó por medio de reglas de tres simples directas, una vez obtenidos los datos de las pruebas DAS-ELISA (Gent *et al.*, 2004; Karavina y Gubba, 2016). Las fincas muestreadas fueron georreferenciadas, posteriormente, con los datos y las coordenadas se realizó un mapa temático con su distribución espacial mediante el SIG Qgis versión 3.24.0.



### **3.5 Identificación de especies de trips**

#### **3.5.1 Muestreo y captura de trips**

La toma de muestras de trips en cada una de las parcelas fue aleatoria. Por cada parcela se realizó un recorrido en zig-zag, durante el trayecto se seleccionaron un promedio de 10 plantas de cebolla para la recolecta de especímenes. El método de captura se realizó con un pincel (No. 2) humedecido en etanol al 70,0%. Humedecido el pincel se introducía en las hojas internas de las plantas, con ello los trips se adherían a él, después el pincel era sumergido en un tubo de microcentrifugación de 1.5 mL que contenía etanol al 70,0%. La captura de trips en arvenses se realizó con el mismo método, deslizando el pincel humedecido sobre el tejido de las plantas. Por último, a cada tubo se le asignó un código con información pertinente a la finca muestreada. Los trips se almacenaron en los tubos de microcentrifugación hasta su correspondiente procesamiento y montaje en el laboratorio.

#### **3.5.2 Maceración y deshidratación**

Previo al montaje permanente de trips se realizó un proceso de maceración, deshidratación y aclaración de los insectos, con la finalidad de obtener muestras translúcidas y decoloradas. Esto permitió observar algunos caracteres morfológicos específicos que son necesarios de visualizar para una correcta identificación. Para ello, se seleccionó un promedio de cuatro especímenes adultos por finca, para luego identificarlos a nivel de especie.

Inicialmente, se colocaron los trips en un envase de vidrio y se agregó hidróxido de potasio (KOH) a una concentración del 5,0% y se dejaron reposar en la solución durante 30 min. Luego, se colocaron los insectos en una placa de pozos y se transfirieron por medio de un gradiente de etanol a diferentes concentraciones. Primero, se colocó los insectos en etanol al 60,0% durante 25 min, luego al 70,0% por 20 min; seguido al 80,0% por 15 min; después al 90,0% por 10 min; luego en alcohol absoluto (etanol al 100%) por 3 min y por último en aceite de clavo de olor durante 30 min.

### **3.5.3 Montaje**

Una vez macerados y deshidratados los insectos se realizaron montajes permanentes en láminas, empleando la metodología descrita por Goldarazena (2015). Concluido el montaje, se secaron las muestras en una estufa durante un período mínimo de 72 horas a 40,0 °C.

### **3.5.4 Identificación de especies**

Con un microscopio especializado (Nikon Eclipse 80i) y mediante claves dicotómicas propuestas por Mound y Kibby (1998), Mound y Marullo (1996), Cluever y Smith (2017), se analizaron y fotografiaron los caracteres morfológicos singulares de cada muestra.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Detección de *Orthotospovirus*

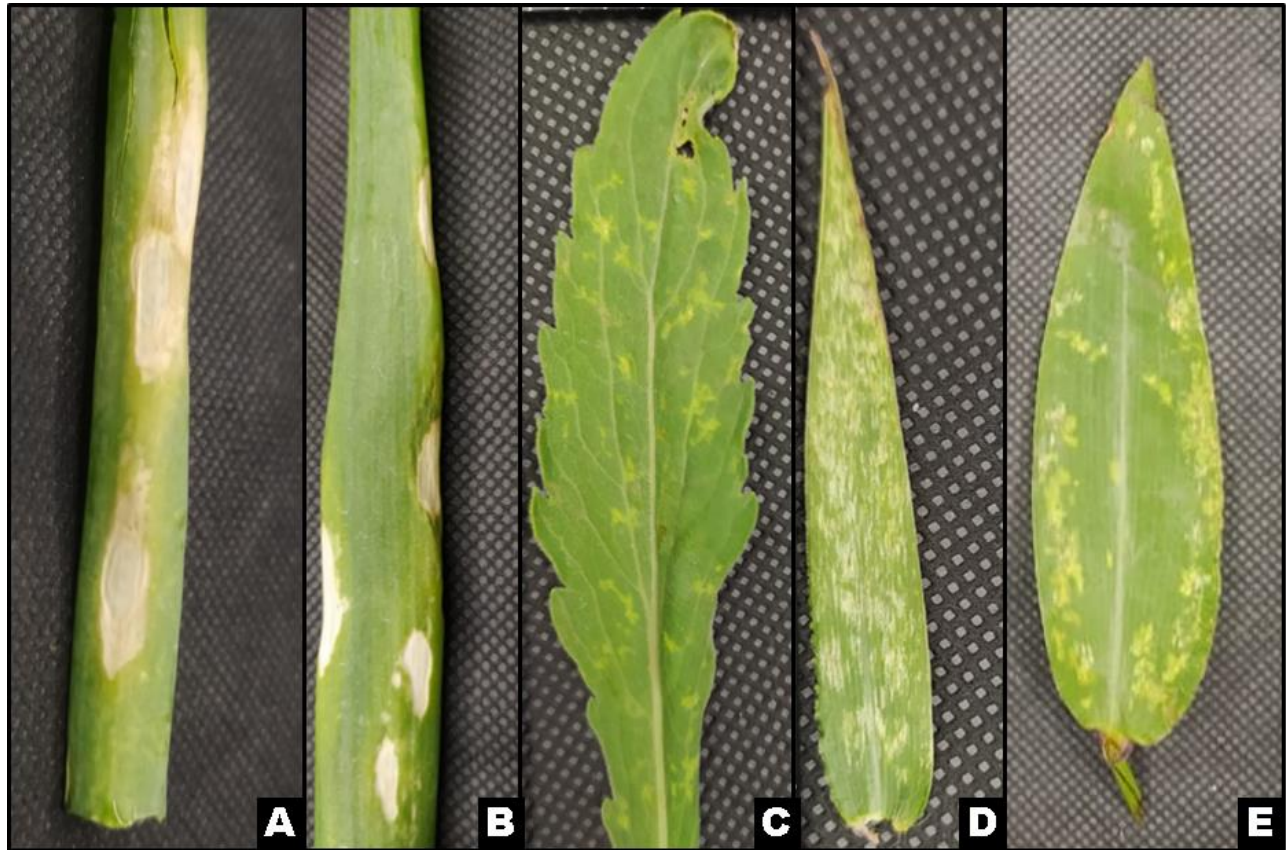
Se detectó la presencia de los *Orthotospovirus* INSV e IYSV en el cantón de Zarceró. Se analizaron 260 muestras de cebolla y 71 de arvenses (Anexo 1). Del total de muestras de cebolla se detectó IYSV en 22 muestras (8,4%). De estas, 17 mostraron síntomas virales similares a los descritos en previas investigaciones (Figura 3A y 3B), por su parte el IYSV no se detectó en arvenses. Por otro lado, el INSV no se detectó en ninguna de las muestras del cultivo, sin embargo, los resultados para las muestras de arvenses si dieron positivo para INSV en cuatro muestras, de las cuales tres mostraron síntomas similares a los ocasionados por insectos chupadores (Figura 3C, 3D, 3E) (Cuadro 1).

**Tabla 1.** Muestras positivas para el análisis de INSV e IYSV, detectadas mediante la prueba serológica DAS-ELISA, recolectadas en siembras de cebolla en la zona de Zarceró durante la temporada seca y lluviosa del 2021.

Espece	Total/INSV- positivas <sup>a</sup>	Total/IYSV- positivas <sup>b</sup>
<i>Allium cepa</i>	260/0 (0%)	260/22 <sup>b</sup> (8,4%)
<i>Conyza bonariensis</i>	7/2 <sup>a</sup> (28,5%)	7/0 (0%)
<i>Digitaria abyssinica</i>	3/1 <sup>a</sup> (33,3%)	3/0 (0%)
<i>Paspalum candidum</i>	6/1 <sup>a</sup> (16%)	6/0 (0%)

a. Una de las dos muestras positivas de *C. bonariensis* y las muestras positivas de *D. abyssinica* y *P. candidum*, presentaron síntomas similares a los inducidos por insectos chupadores.

b. 17 de las 22 muestras positivas de *A. cepa* presentaron síntomas de manchas cloróticas. Las otras cinco muestras fueron asintomáticas.



**Figura 3.** Sintomatología de las muestras positivas para los *Orthotospovirus* INSV e IYSV. A y B) tejido foliar de cebolla con manchas cloróticas secas. C, D y E) tejidos foliares de *C. bonariensis*, *D. abyssinica* y *P. candidum*, respectivamente, con síntomas cloróticos similares a los ocasionados por insectos chupadores.

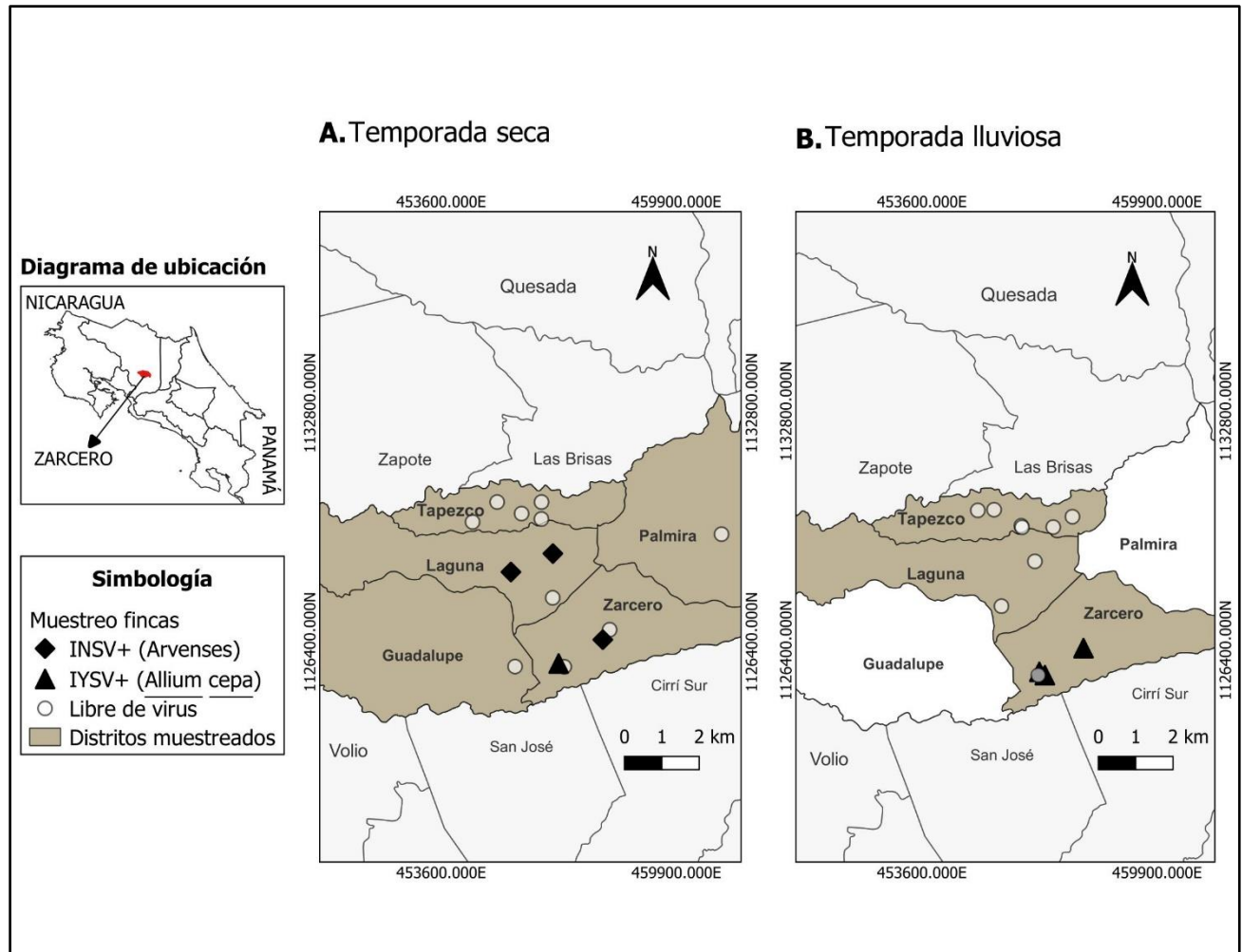
También, mediante DAS- ELISA se analizaron los *Potyvirus* LYSV y OYDV. Para ambos virus se analizó un total de 108 muestras de cebolla y 33 de arvenses. No obstante, ninguna muestra de cebolla y de arvenses fue positiva.

#### **4.2 Determinación de la distribución e incidencia de los *Orthotospovirus***

La distribución, frecuencia e incidencia de IYSV en fincas con cultivo de cebolla en Zarceró varió entre temporadas climáticas. Durante la temporada seca sólo se detectó una finca (var. Alvara) positiva de IYSV, ubicada en el distrito de Zarceró. Esta finca presentó una incidencia estimada de un 80,0%. Por el contrario, durante la temporada lluviosa la distribución y frecuencia de IYSV incrementó a tres fincas, todas dentro del distrito central de Zarceró. Una de ellas corresponde a la misma finca que se detectó positiva durante la temporada seca, presentando una incidencia estimada de un 30,0%. Asimismo, la finca adyacente (var. Gladalan Brown) también fue positiva, presentando el mayor porcentaje de incidencia estimada de un 90,0%. Por lo que podría indicar un posible foco de infección. Por último, la tercera finca (var. Alvara) positiva de IYSV en el distrito de Zarceró presentó una incidencia estimada de un 20,0% (Figura 4B). Cabe volver a destacar que el INSV no se detectó en el cultivo de cebolla.

Respecto a plantas arvenses, no se detectaron fincas con arvenses positivas de IYSV. Por lo contrario, los resultados de la prueba DAS-ELISA, sugieren una posible infección de INSV en cuatro muestras de arvenses. No obstante, estos resultados preeliminares requieren de un posterior análisis mediante pruebas moleculares, con la finalidad de confirmar la presencia del virus. Estas muestras se recolectaron en tres fincas distintas durante la temporada seca. Dos de estas fincas se ubican en el distrito de Laguna y la tercera en Zarceró (Figura 4A). Sin embargo, durante la temporada lluviosa no se detectó ninguna arvense positiva para INSV.

Los resultados de esta investigación, permiten estimar en términos generales para el cantón de Zarceró durante el 2021, una frecuencia de fincas muestreadas con cultivo de cebolla positivas de IYSV de un 11,5%, todas ellas dentro del distrito central de Zarceró. Además, se establece una incidencia promedio de un 8,4%. No se determinó la frecuencia e incidencia de fincas positivas de INSV al no determinarse la presencia del patógeno en el cultivo de cebolla. Tampoco, se establece la incidencia de arvenses debido a un muestreo basado en criterios subjetivos.



**Figura 4.** Mapa distribución de la presencia de INSV e IYSV, en fincas con cultivo de cebolla (*A. cepa*) en el cantón de Zarcero durante el 2021. A. Distribución de fincas positivas de INSV e IYSV durante la temporada seca (febrero-marzo). B. Distribución de fincas positivas de IYSV durante la temporada lluviosa (julio-diciembre). Escala 1:10000. Sistema de coordenadas CRTM05.

### 4.3 Identificación morfológica y taxonómica de tisanópteros

A excepción del sistema de producción de almácigos, se capturaron trips en todas las fincas con cultivo de cebolla. En total, se analizaron 68 montajes de tisanópteros capturados directamente de plantas de cebolla. De acuerdo con los resultados obtenidos 67 especímenes corresponden a la especie *Thrips tabaci* (Figura 5A). Únicamente una muestra fue diferente, la cual se identificó como *Frankliniella fusca* (Figura 6A). Además, se realizó un sexado de las muestras. El criterio para separar entre hembras y machos fue la presencia o ausencia del órgano ovopositor, donde se obtuvo un 100% de hembras. Es decir, que tanto la especie como el sexo de la misma no varió, conforme a las temporadas climáticas ni por las distintas zonas altitudinales.

Las características morfológicas específicas que conllevaron a la identificación de la especie *Thrips tabaci*, fueron las siguientes: antenas con siete antenómeros (Figura 5E), antenas con conos sensoriales bifurcados en los antenómeros III-IV, alas anteriores con la primera vena discontinúa (Figura 5A), tergo abdominal VIII con ctenidia situada posteromedial al espiráculo (Figura 5C), seta ocelar I (SO1) ausente, pronoto con 0-2 pares de setas posteroangulares, ocelos color gris, tergo abdominal IX con un par de sensilas campaniformes (Figura 5D), filas de microtriquias en los pleurotergitos abdominales (Figura 5B), y tres setas ubicadas en el II tergo abdominal (Figura 5F).

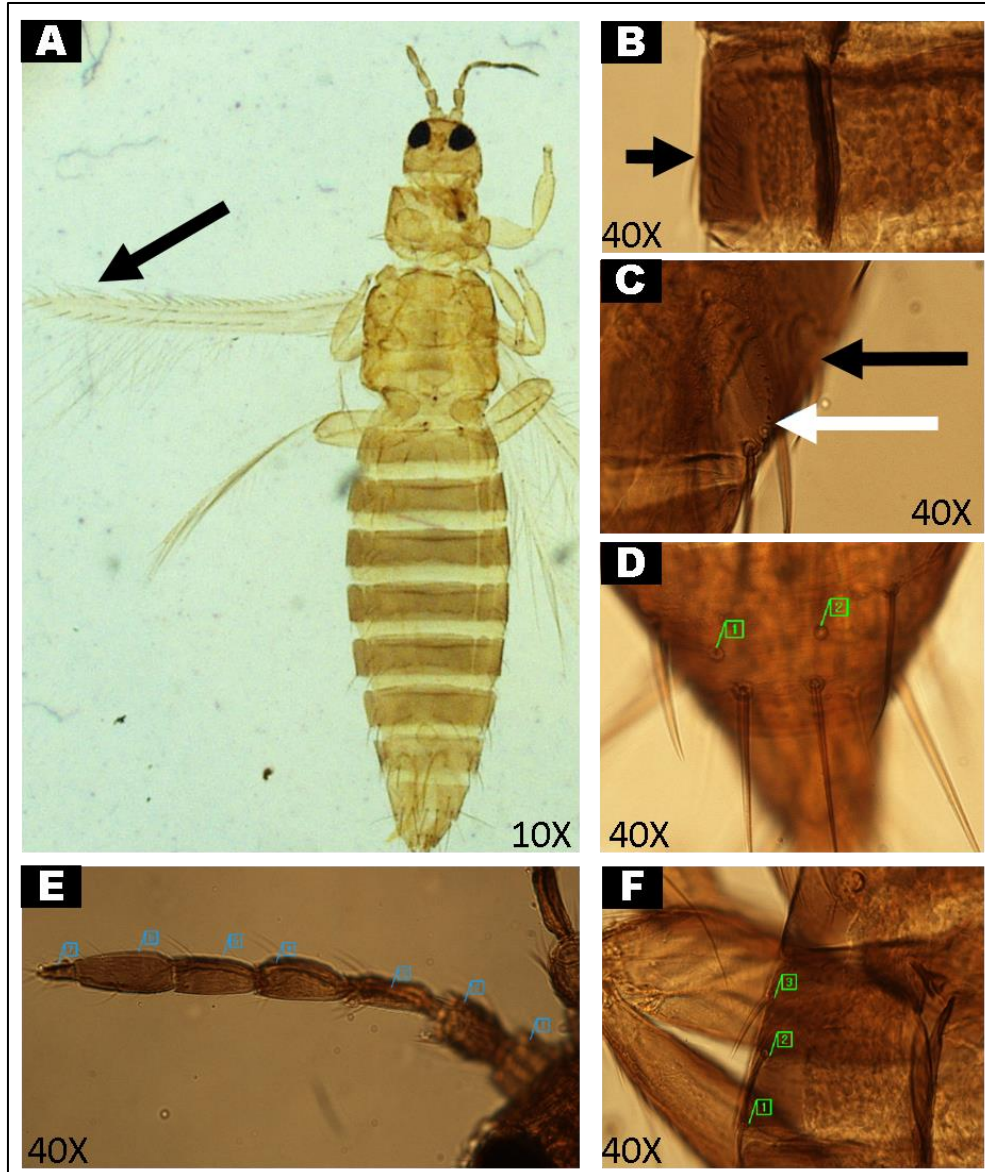
Se identificó la especie *F. fusca* según los siguientes caracteres morfológicos: antenas con ocho antenómeros (Figura 6E), conos sensoriales bifurcados en los antenómeros III-IV (Figura 6D), pedicelo del III segmento antenal corto, no convexo y sin bordes (Figura 6B), setas continuas en la primera vena de las alas anteriores, ctenidia en el tergo abdominal VIII situada posteroanterior al espiráculo, SO1 presente, pronoto con 0-5 pares de setas largas, furca metatorácica sin espinula, par de sensilas campaniformes en el metanoto (Figura 6F), y setas ocelares III (SO3) emergiendo del margen anterior de los ocelos posteriores (Figura 6C).

Adicional, se identificaron tisanópteros capturados en muestras de arvenses. De un total de 71 muestras solo se logró identificar trips en cuatro especies distintas de arvenses. En específico, se identificó: un individuo de *T. tabaci* y de *F. occidentalis* (Figura 7A), respectivamente, en una muestra de *A. hibrydus*. Otro individuo *F. occidentalis* en *B. rapa*. Un individuo de *T. tabaci* y de *F. schultzei* (Figura 8A), respectivamente, en una muestra de *C. bonariensis* (INSV+). Por último, en *S. oleraceus* se identificó un individuo de *T. tabaci*.

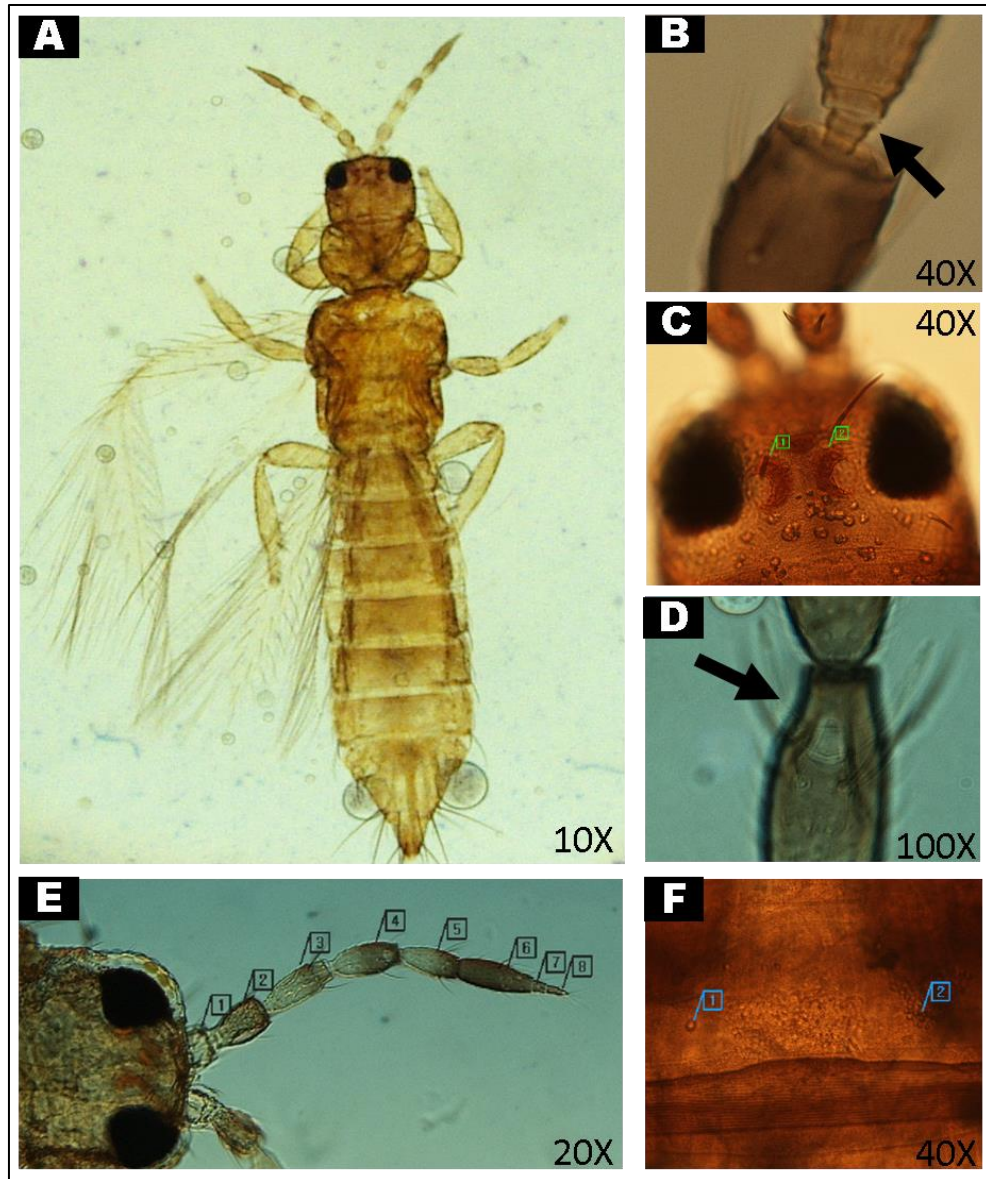
Las características morfológicas para identificar la especie *F. occidentalis* fueron: venas de las alas anteriores con filas de setas continuas (Figura 7B), antenas con ocho antenómeros, conos sensoriales bifurcados en los antenómeros III-IV, pronoto con 0-5 pares de setas largas, SO1 presente, tergito abdominal VIII con ctenidia ubicada posteroanterior al espiráculo (Figura 7D), furca metatorácica sin espinula, pedicelo del III segmento antenal corto, no convexo y sin bordes, craspedum en el tergito abdominal VIII más largo que las setas discales en el IX tergito (Figura 7E), SO3 surgiendo ligeramente del margen anterior de los ocelos posteriores, y las bases de las setas cercanas al margen del triángulo ocelar y setas post oculares presentes (Figura 7D).

La especie *F. schultzei* se identificó de acuerdo a los siguientes caracteres: antenas con ocho antenómeros, conos sensoriales bifurcados en los antenómeros III-IV, venas de las alas anteriores con filas de setas continuas, SO1 presente y SO3 cercanas al margen anterior de los ocelos posteriores (Figura 8B), pronoto con 0-5 pares de setas largas (Figura 8C), tergito abdominal VIII con ctenidia ubicada posteroanterior al espiráculo, furca metatorácica sin espinula, pedicelo del III segmento antenal corto, sensilas campaniformes ausentes en el metanoto y craspedum ausente en el VIII tergito abdominal.

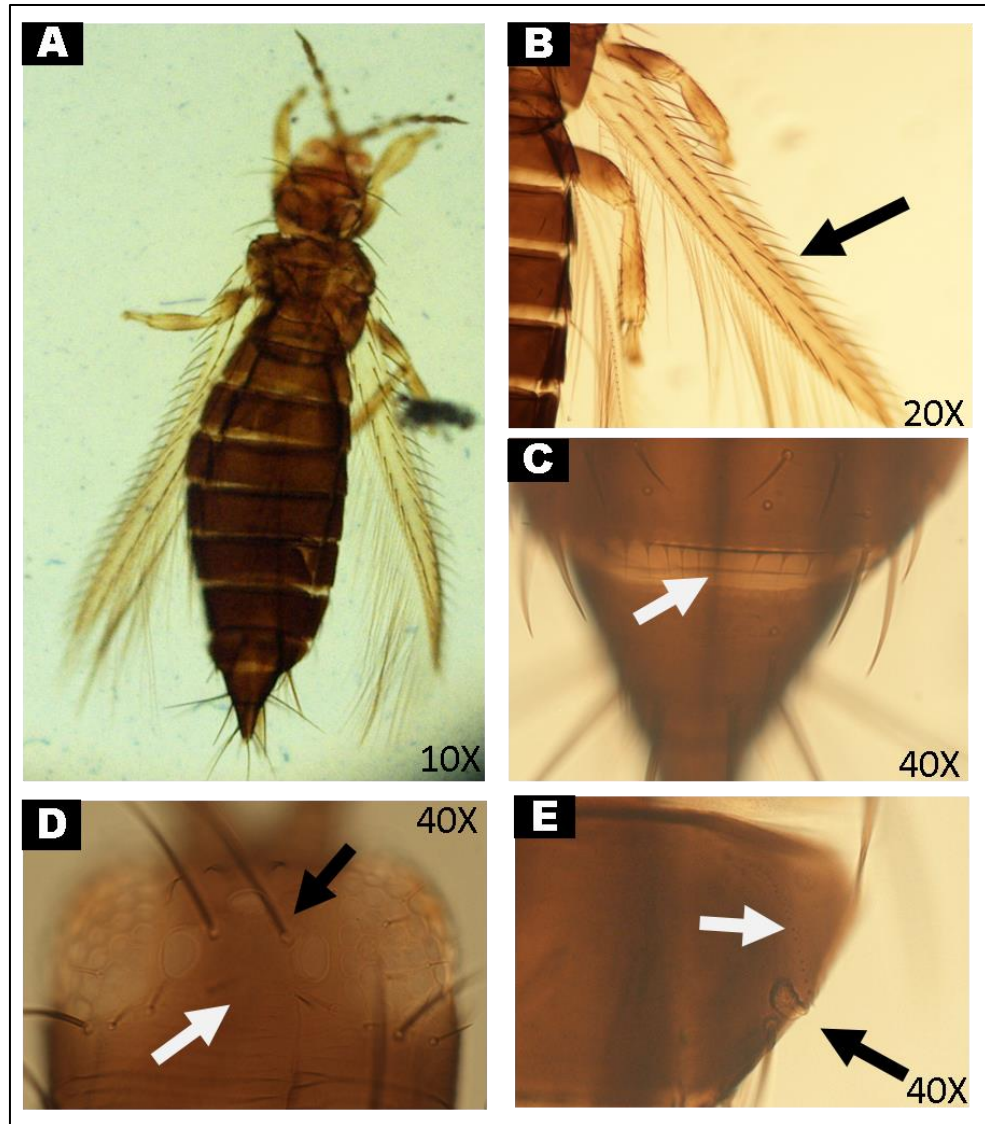




**Figura 5.** A) *Thrips tabaci* (♀), en la figura se observa la primera vena del ala anterior con setas discontinuas (flecha negra). B) filas de microtriquias (flecha negra) en los pleurotergitos abdominales. C) ctenidia (flecha blanca) en el tergito abdominal VIII posteriomedial al espiraculo (flecha negra). D) par de sensilias campaniformes en el IX tergito abdominal. E) antenas con siete antenómeros. F) tres setas laterales en el II tergito abdominal.

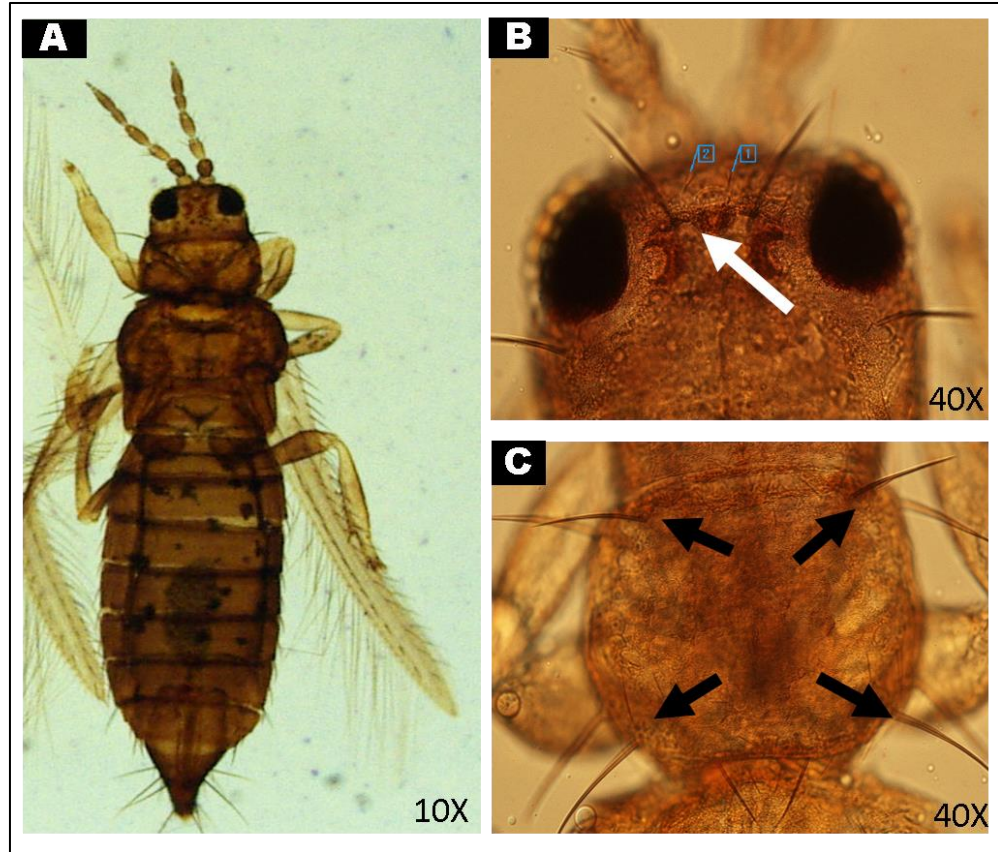


**Figura 6.** A) *Frankliniella fusca* (♀). B) pedicelo del III antenómero corto, no convexo y sin bordes. C) SO3 (marcas verdes) emergiendo del margen anterior de los ocelos posteriores. D) conos sensoriales bifurcados (flecha negra) en los antenómeros III-IV. E) antena con ocho antenómeros. F) sensilas campaniformes en el metanoto.



**Figura 7.** A) *Frankliniella occidentalis* (♀). B) fila de setas continuas en las venas de las alas anteriores (flecha negra). C) craspedum (flecha blanca) en el tergito abdominal VIII más largo que las setas discales en el IX tergito. D) SO3 surgiendo ligeramente del margen anterior de los ocelos posteriores, y las bases de las setas cercanas al margen del triángulo ocelar (flecha negra). Seta post ocular I (flecha blanca) presente. E) ctendia (flecha blanca) situada posteroanterior al espiráculo (flecha negra) en el VIII tergito abdominal.





**Figura 8.** A) *Frankliniella schultzei* (♀). B) SO1 presente (marcas azules), SO3 cercanas al margen anterior de los ocelos posteriores. C) pronoto con 0-5 pares de setas largas (flechas negras).

## 5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 5.1 Detección de *Orthotospovirus*

En este trabajo se detectó la presencia de IYSV en fincas con cultivo de cebolla, en el cantón de Zarceró, Alajuela. Estos resultados concuerdan con el trabajo reportado por Montero-Astúa *et al.* (2017) para las provincias de San José y Cartago. Asimismo, en conformidad con los resultados de la identificación de los tisanópteros en el cultivo, y en conjunto con la literatura previa, se contempla a la especie *T. tabaci* como el vector del virus. No obstante, se desconoce la vía de ingreso del patógeno al cantón de Zarceró. En otros países, estudios previos como los realizados por Çota y Merkuri (2004), indican como principal vía de introducción del patógeno a otras regiones, el traslado de materiales vegetales o de trips infectados. Esto debido a que IYSV no se transmite vía semilla, y por vía mecánica es inusual. Además, el traslado de los trips a largas distancias por acción del viento es poco probable (Bulajić *et al.*, 2009; Hsu *et al.*, 2010).

Por lo contrario, INSV no se detectó en el cultivo de cebolla. Por ende, tampoco se determinaron muestras con infecciones mixtas de INSV e IYSV. En cebolla, se han reportado infecciones mixtas de TSWV e IYSV (Mullis, Langston, Gitaitis, Sherwood y Csinos, 2004). En Costa Rica, resultados de Dejók-Protti (2015) sugieren muestras de cebolla con infecciones mixtas de INSV e IYSV. De manera contraria, en esta investigación no se presentó dicha interacción. Esto se puede adjudicar a que solo un espécimen (*F. fusca*) de los trips capturados en el cultivo, y posteriormente identificados a nivel de especie, corresponden con especies de trips previamente confirmados como vectores de INSV (Kuo *et al.*, 2014; Oliver y Whitfield, 2016). Entonces, en el cultivo de cebolla la presencia de vectores de INSV fue prácticamente nula, y por esta razón, se plantea el por qué no se detectó el virus.

En Costa Rica, a pesar que se ha confirmado la presencia de IYSV en el cultivo de cebolla, aún se desconocen los posibles daños inducidos por el virus en el rendimiento del cultivo. Según Mangli *et al.*, 2020, los daños de IYSV en cebolla principalmente afectan la producción de semilla bótanica. A pesar de esto, otros autores también han indicado daños significativos en el rendimiento del bulbo (Muñoz *et al.*, 2014; Pozzer *et al.*, 1999). Por lo cual, sería prudente cuantificar las posibles afectaciones del virus en el país. A razón de estos resultados, se podrán tomar decisiones que justifiquen los costos en el manejo o no de la enfermedad.

En este trabajo, el 77% de las muestras de cebolla positivas de IYSV mostraron síntomas de manchas cloróticas secas, similares a los reportados por Muñoz *et al.* (2014) y Ramírez-Rojas *et al.* (2017). A pesar de esto, ninguna muestra evidenció el síntoma singular de IYSV, que asemeja la forma de un diamante, según describen Bag *et al.* (2015). Este síntoma particular se ha reportado afectando principalmente los escapos florales (Bulajić *et al.*, 2009; Gera, Cohen, Salomon y Raccah, 1998). Por lo que, el síntoma es más recurrente en plantaciones cuya finalidad es obtener semilla botánica, caso que no se presenta en el país. Por otra parte, el 23% de las muestras positivas no mostraron síntomas. Plantas asintomáticas de IYSV también han sido reportadas por Kritzman, Lampel, Raccah y Gera (2001), y Pozzer *et al.* (1999). Aun cuando, éstas representan un menor porcentaje tienen alta relevancia epidemiológica, ya que actúan como reservorios y fuentes de inoculo (Aguiar *et al.*, 2018; Marín-Ortiz, Hoyos-Carvajal y Botero-Fernández, 2018).

Diversas plantas arvenses se han reportado como hospedantes de IYSV. No obstante, en esta tesis no se detectaron arvenses positivas. En primer lugar, esto puede deberse a que IYSV no es un virus sistémico, es un virus localizado y su movimiento en la planta es limitado. Según Ávila-Alistac, Ramírez-Rojas, Lozoya-Saldaña, Rebollar-Alviter y Gúzman-Plazola (2017); la heterogeneidad de IYSV en los tejidos de las plantas junto con síntomas inconsistentes complica su detección por medio de técnicas serológicas e incluso moleculares, y esto se dificulta especialmente en plantas que carecen de investigación previa, caso contrario al cultivo de cebolla, en el que se ha determinado cuales son

los segmentos de tejido foliar con mayor probabilidad de obtener las mejores tasas de títulos virales (Kritzman *et al.*, 2001). Por otra parte, se presume que no se detectaron arvenses positivas de IYSV, debido a que en pocas muestras de arvenses se recolectaron e identificaron especies de *T. tabaci*, dado que este es el principal transmisor de IYSV. Doederlein y Sites (1993) mencionan que *T. tabaci* es una especie fuertemente asociada al cultivo de cebolla. Señalan que aún en presencia de arvenses u otros cultivos, esta especie opta por hospedarse en la cebolla. Esta razón explicaría por qué en arvenses se recolectaron pocos individuos de *T. tabaci*. Asimismo, los autores anteriores incluso indican que el manejo de arvenses en presencia del cultivo no es eficaz, debido a su gran preferencia por dicho cultivo.

## **5.2 Determinación de la distribución e incidencia de los *Orthotospovirus***

Se determinó que IYSV solo se localiza en fincas del distrito de Zarcero. Durante la temporada seca (TS) solo se detectó una finca positiva, y durante la temporada lluviosa (TL) tres. Este resultado es relevante ya que se ha reportado que el virus puede propagarse rápidamente, si no se ejercen las medidas necesarias (Gent *et al.*, 2004). La única finca positiva durante la TS también fue positiva en la TL. Esto se podría deber a que las siembras constantes del cultivo en estrecha proximidad de espacio favorecen el ciclo de infección del virus, ya que se ha reportado la migración de trips virulentos hacia cultivos contiguos (Coutts *et al.*, 2003; Hsu *et al.*, 2010). Además, explicaría por qué durante la TL la finca adyacente también fue positiva. El ciclo de infección del virus también se favorece por la presencia de plantas voluntarias. En Colorado (USA), una investigación realizada por Aspen (2014) evaluó la sobrevivencia de IYSV y *T. tabaci* en fincas con cultivo de cebolla durante tres épocas de invierno, comprendidas entre el periodo 2011-2013. Sus resultados indican que plantas voluntarias de cebolla sirven de refugio para *T. tabaci* y que además son las fuentes de inóculo que permiten la infección de posteriores siembras. El papel que representan estas plantas como fuentes de inóculo de IYSV también ha sido reportado por Gent *et al.* (2004) y Schwartz *et al.* (2014). Por otra parte, la razón del por qué el virus no está presente en los otros distritos del cantón es desconocida.

Incrementos en la distribución espacial de fincas con cultivo de cebolla positivas de IYSV, como se describe en este trabajo, también han sido reportados por otros autores. Por ejemplo, Gent *et al* (2004) investigaron la distribución y frecuencia de fincas positivas de IYSV en cuatro regiones del estado de Colorado (USA) entre el periodo 2001-2003. Durante el año 2001 solo detectaron una finca positiva de 18 muestreadas (5,6%), en el año 2002 incrementó a 4 fincas de 24 muestreadas (16,7%), y para el año 2003, 41 de 56 fincas (73,2%) analizadas fueron positivas. En términos generales, sus resultados indicaban que la frecuencia de fincas positivas de IYSV (87,0%) en Colorado, se concentraba en una de las cuatro regiones muestreadas. Resultados similares han sido reportados en Serbia por Bulajić *et al* (2009), los cuales estudiaron la frecuencia y distribución de IYSV en 14 distritos durante el periodo 2005-2007. Estos autores, determinaron que IYSV solo estaba presente en dos distritos, de los 14 analizados. Por ello, Gent *et al* (2004), y Hsu *et al* (2010) sugieren que la frecuencia e incidencia espacio-temporal de IYSV y de poblaciones de *T. tabaci* tienden a permanecer en regiones específicas. Por otra parte, según Trebicki (2020), la epidemiología de un virus puede ser afectada tanto por factores antropológicos, abióticos, bióticos y geográficos, por lo tanto, las condiciones de cada región intervienen en la dispersión e incidencia del patógeno.

La incidencia de plantas positivas de IYSV muestreadas por cada finca varió entre las temporadas climáticas. En la finca que se detectó el virus durante ambas temporadas, los resultados indican una reducción en la incidencia durante la TL en comparación con la TS (30,0% y 80,0%, respectivamente). Esta variación pudo deberse a las precipitaciones, debido a que estas suelen tener un efecto negativo sobre las poblaciones de trips, y la cantidad de individuos tiene una correlación positiva sobre la incidencia de los *Orthospovirus* (Birithia, Subramanian, Muthonian y Narla, 2018; Kuo *et al.*, 2014; Raut *et al.*, 2020). No obstante, durante la TL otra finca registró el mayor porcentaje de plantas infectadas (90,0%). Resultados similares al anterior, han sido reportados en otras especies de *Orthospovirus*. Por ejemplo, en India, Gopal, Muniyappa y Jagadeeshswar (2011), estudiaron la incidencia del “groundnut bud necrosis orthospovirus (GBNV)” en el cultivo de maní, así como, la presencia del virus en arvenses. En general, obtuvieron mayor incidencia de plantas infectadas por



GBNV durante la temporada lluviosa, así también, confirmaron la presencia del virus en diversas arvenses. Por otra parte, en Tailandia, Halaweh (2008) estudió en el cultivo de tomate, la interacción del virus “*Capsicum chlorosis orthotospovirus*” y su vector *Ceratothripoides claratris*. Este autor recolectó e identificó mayor cantidad de *C. claratris* virulíferos de GBNV durante la TL en arvenses anexas al cultivo. Ambas investigaciones antes mencionadas, sugieren que este aumento de incidencia durante las temporadas lluviosas pudo ser propiciado en cierto grado por la participación de hospederos alternos. Sin embargo, para comprender y tener mayor información sobre la epidemiología de un virus, se requiere investigar su comportamiento durante varios periodos.

### **5.3 Identificación morfológica y taxonómica de los tisanópteros**

En este trabajo *T. tabaci* fue la especie predominante (98,5% de los especímenes identificados) asociada al cultivo de cebolla. Esto concuerda con diversos resultados de previas investigaciones. En España, por ejemplo, estudios sobre la dinámica poblacional de trips en cebolla, realizados en cinco distintas localidades durante 1992, señalan que *T. tabaci* representó el 95,0% de las especies (Torres-Vila, Lacaza, Bielsa y Meco, 1994). En Polonia, Olczyk y Pobożniak (2020), estudiaron durante el periodo 2014-2016 la composición de especies de tisanópteros asociados al cultivo de cebolla. Sus resultados indican que el 64,4% de los especímenes identificados correspondieron a *T. tabaci*. Investigaciones en Colorado (USA) durante el periodo 2006-2008 en 83 distintas localidades, indican a *T. tabaci* como la especie predominante, con porcentajes superiores al 80,0% (Schwartz *et al.*, 2014). De manera similar, en otras regiones como África, Asia y Australia; se ha reportado esta especie fuertemente ligada al cultivo de cebolla (Basri y Ansari, 2021; Biritia *et al.*, 2018; Herron, James, Rophail y Mo, 2008). Esta estrecha relación puede deberse a un proceso evolutivo, la preferencia de un insecto ante un hospedero en particular, se debe a que este le brinda condiciones ideales, como: alimento, un hábitat para su desarrollo, y un refugio ante factores abióticos y bióticos (Gripenberg, Mayhew, Parnell y Roslin, 2010; Thompson, 1988).

En Costa Rica, de igual modo, *T. tabaci* es la principal especie de tisanópteros asociados al cultivo de cebolla (Araya, 2012; Blanco, 2011). En Zarcero, los resultados de este trabajo corroboran dicha información. Anteriormente, el manejo de *T. tabaci* se concentró en el uso de plaguicidas (Gitonga, Waiganjo y Mueke, 2006; Martin, Workman y Butler, 2003). Sin embargo, su control mediante plaguicidas no ha sido del todo eficaz, debido a que: los huevos están protegidos por los tejidos de la planta, la prepupa y pupa se encuentran en el suelo, las larvas y los adultos habitan en el cuello de la planta, por lo cual, se dificulta su manejo (Diaz-Montano, 2011). De acuerdo con lo anterior, y en conjunto con los daños que provocan los plaguicidas al ambiente y la salud humana, se ha optado para el manejo de *T. tabaci*, la implementación de estrategias de manejo agroecológico de plagas (MAP). En Costa Rica, Araya (2012) y Blanco (2011) recomiendan prácticas culturales como la remoción de residuos de cosechas, manejo de plantas hospederas alternas, el uso de trampas pegajosas de color azul, así como, la implementación de condiciones apropiadas para la proliferación de diversos controladores y depredadores biológicos, acompañados de las consideraciones climáticas y edáficas de la zona, para asegurar el mayor éxito posible al momento de implementar diferentes opciones.

Poblaciones de *T. tabaci* que se reproducen por vía asexual y sexual pueden coexistir en el cultivo de cebolla, y la proporción de estas poblaciones puede variar en el tiempo (Nault *et al.*, 2006). En este estudio, los resultados de la genitalia de adultos de *T. tabaci*, recolectados de siembras de cebolla durante ambas temporadas climáticas, concluyen que la totalidad de individuos fueron hembras. Debido a esto, se plantea que la población estudiada se reproduce por partenogénesis telitoquia. En el cultivo de cebolla investigaciones realizadas durante varios períodos tanto en condiciones controladas como de campo, también han descrito la predominancia de hembras de *T. tabaci*. No obstante, en especies de trips no se ha comprobado una correlación directa de factores abióticos y bióticos que influyan sobre la proporción sexual (Arrieche, Paz, Montagne y Morales, 2006; Marullo y Grazia, 2012; Moraiet, Ansari y Barsi, 2017; Nault *et al.*, 2006). A pesar de que la partenogénesis telitoquia solo produce hembras, Li *et al.* (2014), indican que no se presenta diferencias significativas en la tasa de fecundidad en comparación con poblaciones que se reproducen de manera sexual. Sin embargo,

mencionan que si existe una diferencia en el desarrollo. En cebolla poblaciones asexuales de *T. tabaci* tienen períodos más longevos en las etapas de larva, prepupa y pupa. Esto eventualmente podría repercutir en la epidemiología de los *Orthotospovirus*, ya que un período más extenso durante la etapa larval permitiría al insecto mayor probabilidad de adquirir el virus o en su defecto mayores tasas virales.

Una planta es hospedera de insectos cuando en ella estos además de alimentarse, completan su ciclo biológico. De lo contrario, aquellas en las que no, se les considera solo como sitios de recolecta (Mound, 2013). Las arvenses que son hospederas de plagas y enfermedades tienen un rol epidemiológico relevante. En este trabajo, se recolectaron en plantas arvenses varias especies de trips. En específico, especímenes de *T. tabaci* en plantas de *A. hybridus*, *C. bonariensis* y *S. oleraceus*. De estas, *A. hybridus* al igual que *S. oleraceus* han sido confirmadas como hospederas de *T. tabaci*, así como, hospederas de IYSV. Por otra parte, *C. bonariensis* ha sido reportada como hospedera de INSV (Karavina y Gubba 2017; Kuo y Gilbertson, 2010; Schartzwz, 2014). También, se recolectaron individuos de *F. occidentalis* en plantas de *A. hybridus* y *B. rapa*. Ambas arvenses confirmadas como hospederas de *F. occidentalis* (Abe *et al.*, 2009; Nyasani Meyhöfer, Subramanina y Poehling, 2012). Además de estos, se recolectó un individuo de *F. schultzei* en una planta de *C. bonariensis*. No obstante, en este último caso no se reporta literatura entre la interacción de ambos organismos. Según lo anterior y de acuerdo con Aguiar *et al.* (2008), es importante profundizar en la investigación de plantas arvenses, debido a que estas pueden ser ambientes propicios para el desarrollo de insectos plaga, además de, servir como fuentes de inóculo secundario.

Por último, los resultados en conjunto de esta tesis es información que puede aplicarse dentro de un manejo agroecológico de plagas (MAP), con la finalidad de evitar la dispersión del virus entre fincas del cantón, así como, fuera de este. Estos datos permitirán a productores y entes del estado establecer estrategias de manejo puntuales. Al delimitar la zona en la cual está distribuido el virus del IYSV, además de identificar la especie de trips predominante en el cultivo, se podrá ejercer manejos pertinentes que logren minimizar los esfuerzos de capital humano y económicos. Por lo cual, se sugiere: 1) implementar estrategias de manejo biológico, culturales y químicas, enfocadas sobre el ciclo de vida de *T. tabaci*. 2) Eliminar plantas voluntarias de cebolla. 3) Evitar siembras consecutivas de cebolla dentro del mismo lote o zonas cercanas, por lo cual, se deben de implementar prácticas de rotación de cultivos para romper el ciclo del vector. 4) Implementar medidas cuarentenarias o evitar el traslado de material vegetal a otros distritos del cantón, así como, fuera del mismo, para evitar la diseminación del virus.

## 6. CONCLUSIONES

1. En Zarcero, se detectó la presencia de IYSV en fincas con cultivo de cebolla mediante la prueba serológica DAS-ELISA. El INSV no se detectó en muestras de cebolla, sin embargo, los resultados sugieren la presencia de INSV en muestras de arvenses de *C. bonariensis*, *D. abyssinica* y *P. candidum*.
2. En este estudio, se ha determinado la incidencia y distribución de IYSV en el cantón de Zarcero. Se concluye que el 11.5% de las fincas muestreadas con cultivo de cebolla están infectadas por el virus, asimismo, este virus solo está presente en el distrito de Zarcero. Además, la incidencia de IYSV corresponde a un 8,4% a razón de las muestras recolectadas en el cantón.
3. De acuerdo con los análisis morfológicos y taxonómicos se determinó que *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) es la especie predominante asociada al cultivo de cebolla en la zona de estudio.

## 7. RECOMENDACIONES

1. Basado en los resultados de este trabajo se deben establecer medidas fitosanitarias, con la finalidad de prevenir la diseminación de IYSV a otras zonas del cantón, así como, fuera de esta.
2. En Costa Rica, es necesario cuantificar las posibles pérdidas económicas que suponen la presencia de los trips y del virus IYSV en el cultivo del bulbo de cebolla.
2. Escalar en tiempo y espacio los análisis de *Thrips tabaci* en el cultivo de cebolla, con la finalidad de obtener mayor información acerca de la interacción de ambos organismos, y que sus resultados permitan ser una herramienta para el manejo de esta plaga.

## 8. REFERENCIAS

- Abdelkhalek, A., Qari, S., & Hafez, E. (2018). Iris yellow spot virus-induced chloroplast malformation results in male sterility. *Journal of Biosciences*, 44(142). doi: 10.1007/s12038-019-9960-9
- Abe, H., Shimoda, T., Ohnishi, J., Kugimiya, S., Narusaka, M...& Kobayashi, M. (2009). Jasmonate-dependent plant defense restricts thrips performance and preference. *BMC Plant Biology*, 9(97). doi: 10.1186/1471-2229-9-97
- Aguiar, R., Alves, G., Queiroz, A., Nascimento, I., & Lima, M. (2018). Evaluation of weeds as virus reservoirs in watermelon crops. *Plantas Daninhas*, 36(1). doi: 10.1590/S0100-83582018360100032
- Almasi, A., & Almasi, G. (2018). Colorimetric immunocapture loop mediated isothermal amplification assay for detection of Impatiens necrotic spot virus (INSV) by GineFinder™ dye. *European Journal of Plant Pathology*, 150(2), 533-538. doi: 10.1007/s10658-017-1294-6
- Araya, G. (2012). Manual de recomendaciones para el cultivo de cebolla (*Allium cepa* L.). San José, Costa Rica: MAG/INTA
- Arrieché, N., Paz, R., Montagne, A., y Morales, J. (2006). Estudios biológicos de *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) en cebolla, en el estado de Lara, Venezuela. *Bioagro*, 18(3), 149-154.
- Aspen, S. (2014). *Biology and over-winter survival of Iris yellow spot virus in Colorado*. Tesis doctoral. Colorado, USA, Colorado State University. 150 p.

- Ávila-Alistac, N., Ramírez-Rojas, S., Lozoya-Saldaña, H., Rebollar-Alviter, Á., & Gúzman-Plazola, R. (2017). Alternate host of Iris yellow spot virus and trips on onion crops in Morelos and Michoacan, Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(2), 242-262. doi: 10.18781/R.MEX.FIT.1701-1
- Bag, S., Schwartz, H., Cramer, C., Havey, M., & Pappu., H. (2015). Iris yellow spot virus (*Tospovirus: Bunyaviridae*): from obscurity to research priority. *Molecular Plant Pathology*, 16(3), 224-237. doi: 10.1111/mpp.12177
- Basri, R., & Ansari, M. (2020). Effect of barrier crops as a management tool against *Thrips tabaci* in onion ecosystem. *Journal of Entomological Research*, 44(1), 239-248. doi: 10.5958/0974-4576.2020.00042
- Basri, R., & Ansari, M. (2021). Analytical study of phenotypic and biochemical attributes of onion cultivars in relation to infestation of onion thrips, *Thrips tabaci*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 24(3), 529-535. doi: 10.1016/j.aspen.2021.04.003
- Bhattacharyya, D., & Chakraborty, S. (2019). Chloroplast: the trojan horse in plant virus interaction. *Molecular Plant Pathology*, 19(2), 504-518. doi: 10.1111/mpp.12533
- Bilal, A., Ayub, M., Mushtaq, A., Saeed, A., Azeem, M., Khaliq, M., & Rezgui M. (2016). Onion: a review of its global benefits to health. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*, 10(1), 111-115.
- Birithia, R., Subramanian, S., Muthomi, J., & Narla, R. (2018). Seasonal dynamics and alternate host of thrips transmitted Iris yellow spot virus in Kenya. *African Crop Science Journal*, 26(3), 365-376. doi: 10.4314/acsj.v26i3.3



- Blanco, H. (2011). Plagas insectiles asociadas a la cebolla. En Granados, M. (Ed.). *Problemas fitosanitarios de la cebolla en Costa Rica* (pp. 47-55). San José, Costa Rica: Universidad de Costa Rica.
- Bolaños, R., Watson, V., y Tosi, J. (2005). Mapa ecológico de Costa Rica (Zonas de Vida), según el sistema de clasificación de zonas de vida del mundo de L.R. Holdridge, Escala 1:750 000. Centro Científico Tropical, San José, CR.
- Bulajić, A., Djekić, I., Jović, J., Krnjajić, S. Vučurović, A. & Krstić, B. (2009). Incidence and distribution of Iris yellow spot virus on onion in Serbia. *Plant Disease*, 93(10), 976-982. doi: 10.1094/PDIS-93-10-0976
- Cann, A. (2016). *Principles of molecular virology*. Oxfordshire, United Kingdom: Elsevier Ltd.
- Caravaca, P. (2020). *Cebolla: boletín N° 1*. San José, Costa Rica: Consejo Nacional de Producción.
- Di Carli, M., Benvenuto, E., & Donini, M. (2012). Recent insights into plant-virus interaction through proteomic analysis. *Journal of Proteome Research*, 11(10), 4765-4780. doi: 10.1021/pr300494e
- Chen, Y., Dong, J., Chien, W., Zheng, K., Wu, K., Yeh, S...Chen, T. (2016). Monoclonal antibodies for differentiating for three serological-related tospoviruses prevalent in Southwestern China. *Virology Journal*, 13(72). doi: 10.1186/s12985-016-0525-3
- Chen, G., Klinkhamer, P., Escobar-Bravo, R., & Leiss, K. (2018). Type IV glandular trichome density and their derived volatiles are differently induced by jasmonic acid in developing and fully developed tomato leaves: Implications for thrips resistance. *Plant Science*, 276(1), 87-98.

- Cluever, J., & Smith, H. (2017). A photo-based key of thrips (Thysanoptera) associated with horticultural crops in Florida. *Florida Entomologist*, 100(2), 454-467. doi: 10.1653/024.100.0208
- Çota, E. & Merkuri, J. (2004). Introduction of *Frankliniella occidentalis* and occurrence of *Tomato spotted wilt tospovirus* in Albania. *EPPO Bulletin*, 34(3), 421-422.
- Cortês, I., Livieratos, I., Derks, A., Peters, D., & Kormelink, R. (1998). Molecular and serological characterization of Iris yellow spot virus, a new and distinct tospovirus species. *Phytopathology*, 88(12), 1276-1282.
- Cosmi, T., Marchesini, E., & Martini, G. (2003). Presence and spread of *Tospovirus* and thrips vectors in Veneto. *Informatore Agrario*, 59(20), 69–72.
- Coutts, B., McMichael, L., Tesoriero, L., Rondoni, B., Wilson, C...& Jones, R. (2003). *Iris yellow spot virus* found infecting onions in three Australian states. *Australasian Plant Pathology*, 32(4), 555-557.
- Crosslin, J., & Hamlin, L. (2010). First report of Impatiens necrotic spot virus infecting greenhouse-grown potatoes in Washington state. *Plant Disease*, 94(12), 1507-1507. doi:10.1094/PDIS-07-10-0542
- Daughtrey, M. Jones, R., Moyer, J., Daub, M., & Baker, J. (1997). Tospoviruses strike the greenhouse industry: INSV has become a major pathogen on flower crops. *Plant Disease*, 81(11), 1220-1230. doi: 10.1094/pdis.1997.81.11.12
- Dejuk-Protti, N. (2015). *Confirmación de la presencia y variabilidad molecular de Impatiens necrotic spot tospovirus (INSV) e Iris yellow spot tospovirus (IYSV) en Costa Rica*. Tesis Lic. San Pedro, Costa Rica. Universidad de Costa Rica. 144 p.

- Doederlein, T., & Sites, R. (1993). Host plant preferences of *Frankliniella occidentalis* and *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) for onions and associated weeds on the southern high plains. *Journal of Economic Entomology*, 86(6), 1706-1713.
- El-Wahab, A., El-Sheikh, M., & Elnagar, S. (2011). First record of *Frankliniella occidentalis* and *Impatiens necrotic spot virus* in Egypt. *Journal of Life Sciences*, 5(9), 690-696.
- Evans, C., Bag, S., Frank, E., Reeve, J., Ransom, C., Drost, D., & Pappu, H. (2009). Natural infection of Iris yellow spot virus in twoscale saltbush (*Atriplex micrantha*) growing in Utah. *Plant Disease*, 93(4), 430-430. doi: 10.1094/PDIS-93-4-0430C
- Gawande, S., Gurav, V., Ingle, A., & Gopal, J. (2014). First report of Iris yellow spot virus infecting *Allium tuberosum* in India. *Plant Disease*, 98(8), 1161-1161. doi: 10.1094/PDIS-01-14-0002-PDN
- Gent, D., Schwartz, H. & Khosla, R., (2004). Distribution and incidence of *Iris yellow spot virus* in Colorado and its relation to onion plant population and yield. *Plant Disease*, 88(5), 446-452.
- Gent, D., du Toit, L., Fichtner, S., Mohan, S., Pappu, H., & Schwartz, H. (2006). *Iris yellow spot virus*: An emerging threat to onion bulb and seed production. *Plant Disease*, 90(12), 1468-1480.
- Gera, A., Cohen, J., Salomon, R., & Raccach, B. (1998). Iris yellow spot virus detected in onion (*Allium cepa*) in Israel. *Plant Disease*, 82(1), 127-127. doi: 10.1094/PDIS1998.82.1.127B
- Gill, H., Garg, H., Gill, A., Gillett, J., & Nault, B. (2015). Onion thrips (Thysanoptera: Thripidae) biology, ecology, and management in onion production systems. *Journal of Integrated Pest Management*, 6(1), 1-9. doi: 10.1093/jipm/pmv006

- Gitonga, L., Waiganjo, M. & Mueke, J. (2006). Susceptible onion growth stages for selective and economic protection from onion thrips infestation. In *XXVII International Horticultural Congress-IHC2006: International Symposium on Sustainability through Integrated and Organic 767* (pp. 193-200).
- Ghotbi, T. (2013). Serological and molecular detection of INSV and introduction of some INSV ornamental host plants from five provinces in Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 49(1), 41-41.
- Ghosh, S., & Ghanim, M. (2021). Factors determining transmission of persistent viruses *Bemisia tabaci* and emergence of new virus-vector relationships. *Viruses*, 13(9), 1808-1820. doi: 10.3390/v130910808
- Ghosh, A., Timmanna, D., Mandal, B., & Jain, R. (2017). Thrips as the Vectors of Tospovirus in Indian Agriculture. En Mandal, B., Rao, G., Barawal, V. & Jain, R. (Eds), *A Century of Plant Virology in India* (537-561). New Delhi, India: Springer Nature.
- Goldarazena, A. (2015). Orden Thysanoptera. *IDE@-SEA*, 52(1), 1-20. Recuperado de [http://sea-entomologia.org/IDE@/revista\\_52.pdf](http://sea-entomologia.org/IDE@/revista_52.pdf)
- Gopal, K., Muniyappa, V. & Jagadeeshwar, R. (2011). Weed and crop plants as reservoirs of peanut bud necrosis tospovirus and its occurrence in South India. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 44(12), 1213-1224. doi: 10.1080/03235408.2010.484948
- Gripenberg, S., Mayhew, P., Parnell, M., & Roslin, T. (2010). A meta-analysis of preference-performance relationships in phytophagous insects. *Ecology Letters*, 13(), 383-393. doi: 10.1111/j.1461-0248.2009.01433.x

- Grode, A., Chen, S., Walker, E., & Szendrei, Z. (2017). Onion Thrips (Thysanoptera: Thripidae) feeding promotes infection of *Patoea ananatis* in onion. *Journal of Economic Entomology*, *110*(6), 2301-2307. doi: 10.1093/jee/tox273
- Halaweh, N. (2008). *Ceratothripoides claratris*, *Capsicum chlorosis virus* and *Solanum lycopersicum*: A case study of Thrips-Tospovirus-Plant Interaction. Tesis doctoral. Baja Sajonia, Alemania, Universidad de Hannover. 94 p.
- He, Z., Guo, F., Reitz, S., Lei, Z., & Wu, S. (2020). A global invasion by the thrips, *Frankliniella occidentalis*: Current virus vector status and its management. *Insects Science*, *27*(4), 626-645. doi: 10.1111/1744-7917.12721
- Hé Hernández-Soto, A., Echeverría-Beirute, F., & Guzmán-Hernández. (2021). The ARNi as a tool to control tropical pathogens. *Agronomía Mesoamericana*, *32*(1), 326-337. doi: 10.15517/am.v32i1.40896
- Herron, G., James, T., Rophail, J., & Mo, J. (2008). Australian populations of onion thrips, *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae), are resistant to some insecticides used for their control. *Australian Journal of Entomology*, *47*(4), 361-364. doi: 10.1111/j.1440-6955.2008.00669.x
- Holkar, S., Mandal, B., Reddy, M., & Jain, R. (2019). Watermelon bud necrosis orthotospovirus-An emerging constraint in the Indian subcontinent: An overview. *Crop Protection*, *117*(1), 52-62. doi: 10.1016/j.cropro.2018.11.005

- Hong, S., & Lee, C. (2018). The current status and future outlook of quantum dot-based biosensors for plant virus detection. *Plant Pathology Journal*, 34(2), 85-92. doi: 10.5423/PPJ.R.W.08.2017.0184
- Hopkins, K., & Cherry, S. (2013). Bunyaviral cap-snatching vs. decapping: recycling cell cycle mRNAs. *Cell Cycle*, 12(24), 3711-3712. doi: 10.4161/cc.26878
- Hsu, C., Hoepfing, C., Fulch, M., Shelton, A., & Nault, B. (2010). Sources of Iris yellow spot virus in New York. *Population Ecology*, 39(2), 266-277. doi: 10.1603/EN09165
- Infante, F., Ortíz, J., Goldazarena, A., & Sánchez, W. (2022). Thrips on honey bees: more than hitchhikers? *Ecology*, 103(1). doi:10.1002/ecy.3551
- Kamal, N., Nourbakhsh, S., & Cramer, C. (2021). Reduced Iris yellow spot symptoms through selection withing onion breeding lines. *Horticulturae*, 7(12). doi: 10.3390/horticulturae7020012
- Karavina, C., & Gubba, A. (2016). Iris yellow spot virus in Zimbabwe: Incidence, severity and characterization of *Allium*-infecting isolates. *Crop protection*, 94(1), 69-76. doi: 10.1016/j.cropro.2016.12.019
- Karavina, C., & Gubba, A. (2017). *Amaranthus* sp. and *Eleusine indica* are natural hosts of Iris yellow spot virus in Zimbabwe. *Plant Disease*, 101(1), 262-262. doi: 10.1094/PDIS-05-16-0652-PDN
- Kolliopoulou, A., Kontogiannatos, D., & Swevers, L. (2020). The use of engineered plant viruses in a trans-kingdom silencing strategy against their insect vectors. *Frontiers in Plant Science*, 11(917). doi: 10.3389/fpls.2020.00917

- Komoda, K., Narita, M., Yamashita, K., Tanaka, I., & Yao, M. (2017). Asymmetric trimeric ring structure of the nucleocapsid protein of *Tospovirus*. *Journal of Virology*, *91*(20). doi: 10.1128/JVI.01002-17
- Kritzman, A., Lampel, M., Raccach, B., & Gera, A. (2001). Distribution and transmission of Iris yellow spot virus. *Plant Disease*, *85*(8), 838-842.
- Kunh, J., Adkins, S., Agwanda, B., Kubrusli, R., Alkhovsky, S., Amarasinghe, G...Zhou, X. (2021). 2021 Taxonomic update of phylum *Negarnaviricota* (*Riboviria*: *Orthonavirae*), including the large orders *Bunyavirales* and *Mononegavirales*. *Archives of Virology*, *166*(12), 3513-3566. doi: 10.1007/s00705-021-05143-6
- Kuo, Y., Gilbertson, R., Turini, T., Brennan, E., Smith, R., & Koike, S. (2014). Characterization and epidemiology of outbreaks of Impatiens necrotic spot virus on lettuce in coastal California. *Plant Disease*, *98*(8), 1050-1059.
- Leach, A., Fuchs, M., Harding, R., Schmidt-Jeffris, R., & Nault, B. (2018). Importance of transplanted onion contributing to late-season *Iris yellow spot virus* epidemics in New York. *Plant Disease*, *102*(7), 1264-1272. doi: 10.1094/PDIS-06-17-0793-RE
- Leach, A., Fuchs, M., Harding, R., & Nault, B. (2019). Iris yellow spot virus prolongs the adult lifespan of its primary vector, onion thrips (*Thrips tabaci*) (Thysanoptera: Thripidae). *Journal of Insect Science*, *19*(3), 1-4. doi: 10.1093/jisesa/iez041
- Leach, A., Hay, F., Harding, R., Damann, K., & Nault, B. (2019). Relationship between onion thrips (*Thrips tabaci*) and *Stemphylium vesicarium* in the development of *Stemphylium* leaf blight in onion. *Annals of applied Biology*, *176*(6), 55-64. doi: 10.1111/aab.12558

- Li, X., Fail, J., Wang, P., Feng, J., & Shelton, A. (2014). Performance of arrhenotokous and thelytokous *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) on onion and cabbage and its implications on evolution pest management. *Journal of Economic Entomology*, *107*(4), 1526-1534. doi: 10.1603/EC14070
- Mangli, A., Tomassoli, L., Tiberini, A., Agosteo, G., Fontana, A., Pappu, H., & Albanese, G. (2020). A survey on the infection of *Onion yellow dwarf virus* and *Iris yellow spot tospovirus* in seed and bulb production systems of onion in Calabria, Italy. *European Journal of Plant Pathology*, *156*(3), 767-778. doi: 10.1007/s10658-019-01927-4
- Mansouri, F., Krahulec, F., Duchoslav, M., & Ryšánek, P. (2021). Newly identified host range of viruses infecting species of the genus *Allium* and their distribution in six habitats in the Czech Republic. *Plant Pathology*, *70*(6), 1496-1507. doi: 10.1111.ppa.13391
- Marín-Ortiz, J., Hoyos-Carvajal, L., y Botero-Fernández, V. (2018). Detección de plantas asintomáticas de *Solanum lycopersicum*, L. infectadas con *Fusarium oxysporum* usando espectroscopia de reflectancia VIS. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, *12*(2), 436-446. doi: 10.17584/rcch.2018.v12i2.7293
- Maris, P., Joosten, N., Goldbach, R., & Peters, D. (2004). Tomato spotted wilt virus infection improves host suitability for its vector *Frankliniella occidentalis*. *Phytopathology*, *94*(7), 706-711. doi: 10.1094/PHYTO.2004.94.7.706
- Martin, N., Workman, P. & Butler, R. (2003). Insecticide resistance in onion thrips (*Thrips tabaci*) (Thysanoptera: Thripidae). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, *31*(2), 99–106. doi:10.1080/01140671.2003.9514242
- Martinez-Ochoa, N., Mullis, S., Csinos, A., & Webster, T. (2004). First report of yellow nutsedge (*Cyperus esculentus*) and purple nutsedge (*C. rotundus*) in Georgia naturally infected with



Impatiens necrotic spot virus. *Plant Disease*, 88(7), 771-711. doi: 10.1094/PDIS.2004.88.7.771B

Marullo, R., Bonsignore, C., & Vono, G. (2021). Thrips: a review of sampling methods in relation to their habits. *Bulletin of Insectology*, 74(2), 241-251.

Marullo, R., & De Grazia, A. (2012). Notes on sex ratio and reproductive modes in field populations on two pest thrips species (Thysanoptera: Thripidae) in Italy. *Acta Phyttopathologica et Entomologica Hungarica*, 47(1), 117-124. doi: 10.1556/APhyt.47.2012.1.15

Marullo, R., Mercati, F., & Vono, G. (2020). DNA Barcoding: A reliable method for the identification of thrips species (Thysanoptera, Thripidae) collected on sticky traps in onion fields. *Insects*, 11(8). doi: 10.3390/insects11080489

Montero-Astúa, M., Stafford-Banks, C., Badillo-Vargas, I., Rotenberg, D., Ullman, D., & Whitfield, A. (2016). Tospovirus-thrips biology. En J. K. Brown (Ed.), *Vector-mediated transmission of plant pathogens* (289-308). Minnesota, EUA: The American Phytopathological Society.

Montero-Astúa, M., Dejuk-Protti, N., Vásquez, E., Garita, L., & Moreira L. (2017). First report of *Iris yellow spot virus* in Costa Rica. *Australasian Plant Disease Notes*, 12(18), 1-5. doi: 10.1007/s13314-017-0243-8

Mora, S. (2020). *Indicadores macroeconómicos 2017-2021*. San José, Costa Rica: Secretaría Ejecutiva de Planificación Sectorial Agropecuaria. Recuperado de [http://www.sepsa.go.cr/docs/2021-002-Indicadores\\_Macroeconomicos\\_2017-2021.pdf](http://www.sepsa.go.cr/docs/2021-002-Indicadores_Macroeconomicos_2017-2021.pdf)

Moraiet, M., Ansari, M., & Basri, R. (2017). Biological parameters of onion thrips, *Thrips tabaci* Lindeman on onion cultivars. *Journal of Plant Protection Research*, 57(2), 120-128. doi: 10.1515/jppr-2017-0016

- Morris, C., & Moury, B. (2019). Revisiting the concept of host range in plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 57(1), 63-90. doi: 10.1146/annualrev-phyto-082718-100034
- Mumford, R., Macarthur, R., & Boonham, N. (2016). The role and challenges of new diagnostic technology in plant biosecurity. *Food security*, 8(12), 103-109. doi: 10.1007/s12571-015-0533-y
- Mound, L. (2013). Homologies and host plant specificity: recurrent problems in the study of thrips. *Florida Entomologists*, 96(2), 318-322.
- Mound, L., & Cavalleri, A. (2021). Zootaxa 20th Anniversary Celebration: Insect Order Thysanoptera. *Zootaxa*, 4979(1), 224-225. doi: 10.11646/zootaxa.4979.1.23
- Mound, L., & Kibby, G. (1998). *Thysanoptera: An identification guide*. Oxfordshire, United Kingdom: CABI Publishing.
- Mound, L., & Hastenpflug-Vesmanis, A. (2021). All genera of the world: Order Thysanoptera (Animalia: Arthropoda: Insecta). *Megataxa*, 6(1), 2-69. doi: 10.11646/megataxa.6.1.2
- Mound, L., & Marullo, R. (1996). *The thrips of Central and South America: An Introduction (Insecta: Thysanoptera)*. Florida, USA: Associated Publishers.
- Mound, L., Wang, Z., Lima, É., & Marullo, R. (2022). Problems with the concept of “pest” among the diversity of pestiferous thrips. *Insects*, 13(1). doi: 10.3390/insects12010061
- Mullis, S., Langston, D., Gitaitis, R., Sherwood, J., & Csninos, A. (2004). First report of vidalia onion (*Allium cepa*) naturally infected with Tomato spotted wilt virus and Iris yellow spot virus (family *Bunyaviridae*, genus *Tospovirus*) in Georgia. *Plant Disease*, 88(11), 1285-1285. doi: 10.1094/pdis.2004.88.11.1285B

- Muñoz, R., Lerma, M., Lunello, P., & Schwartz, H. (2014). Iris yellow spot virus in Spain: incidence, epidemiology and yield effect on onion crops. *Journal of Plant Pathology*, 96(1), 97-103.
- Nault, B., Shelton, A., Gangloff-Kaufman, J., Clark, M., Werren, J., Cabrera-La Rosa, J., & Kennedy, G. (2006). Reproductive modes in onion thrips (Thysanoptera: Thripidae) populations from New York onion fields. *Environmental Entomology*, 35(5), 1264-1271.
- Nekoduka, S., Kobayashi, K., Fuji, S., Okuda, M., & Sano, T. (2015). Molecular epidemiology of *Impatiens necrotic spot virus* on greenhouse ornamental plants in a local area in Japan. *Journal of General Plant Pathology*, 81(6), 429-438. doi: 10.1007/s10327-015-0615-x
- Nischwitz, C., Gitaitis, R., Mullis, S., Csinos, A., Langston, D., & Sparks, A. (2007). First report of Iris yellow spot virus in spiny sowthistle (*Sonchus asper*) in the United States. *Plant disease*, 91(11), 1518-1518. doi: 10.1094/PDI-91-11-1518C
- Nyasani, J., Meyhöfer, R., Subramanian, S. & Poehling, H. (2012). Feeding and oviposition preference of *Frankliniella occidentalis* for crops and weeds in Kenyan French bean fields. *Journal of Applied Entomology*, 137(3), 204-213. doi: 10.1111/j.1439-0418.2012.01723.x
- Nyasani, J., Subramanian, S., Orindi, B., Poehling, H., & Meyhöfer, R. (2017). Short range dispersal of western flower thrips in field-grown French beans in Kenya. *International Journal of Tropical Insect Science*, 37(2), 79-88. doi: 10.1017/S1742758417000054
- Okuda, M., Fuji, S., Okuda, S., Sako, K., & Iwanami, T. (2010). Evaluation of the potential of thirty-two weed species as infection sources of *Impatiens necrotic spot virus*. *Journal of Plant Pathology*, 92(2), 357-361.

- Oliver, J., & Whitfield, A. E. (2016). The genus Tospovirus: emerging bunyaviruses that threaten food security. *Annual review of virology*, 3(1), 101-124. doi: 10.1146/annurev-virology-100114-055036
- Olczyk, M., & Pobożniak, M. (2020). Thrips (Thysanoptera) associated with onion (*Allium cepa* L.) and welsh onion (*Allium fistulosum* L.). *Folia Horticulturae*, 32(2), 319-335. doi: 10.2478/fhort-2020-0028
- Ogada, P., & Poehling, H. (2015). Sex-specific influences of *Frankliniella occidentalis* (Western Flower Thrips) transmission of tomato spotted wilt virus (*Tospovirus*). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 122(6), 264-274.
- Pacheco da Silva, V., Bonetti, M., Bono, C., & Foester, L. (2015). Morphological and chemical characteristics of onion plant (*Allium cepa* L.) associated with resistance onion crops. *Acta Scientiarum Agronomy*, 37(1), 85-92. doi: 10.4025/actasciagron.v37i1.17436
- Patel, N. V., Pathak, D. M., Joshi, N. S., & Siddhapara, M. R. (2012). Biology of onion thrips, *Thrips tabaci* (Lind.) (Thysanoptera: Thripidae) on onion *Allium cepa* (Linnaeus). *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*, 3(1), 370-383.
- PIMA (Programa Integral de Mercadeo Agropecuario). (2016). *Análisis del consumo de frutas, hortalizas, pescado y mariscos en los hogares costarricenses*. Recuperado de <https://www.pima.go.cr/wp-content/uploads/2017/07/Analisis-Consumo.pdf>
- Pozzer, L., Bezerra, I., Kormelink, R., Prins, M., Peter, D., Resende, R., & de Ávila, A. (1999). Characterization of a Tospovirus isolate of Iris yellow spot virus associated with a disease in onion fields in Brazil. *Plant Disease*, 83(4), 345-350.

- Ramírez-Rojas, S., Ornelas-Ocampo, K., Osuna-Canizalez, F., Bartolo-Reyes, J., Varela-Loza, V., Hernández-Romano, J., & Ochoa-Martínez, D. (2016). Detection of *Iris yellow spot virus* in onion plants from Tepalcingo, Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 34(3), 308-315. doi: 10.18781/R.MEX.FIT.1604-1
- QGIS.org. (2022). QGIS Geographic Information System. QGIS Association. <http://www.qgis.org>
- Raut, A., Pal, S., Wahengbam, J., & Banu, N. (2020). Population dynamics of onion thrips (*Thrips tabaci* lindeman, Thysanoptera; Thripidae) and varietal response of onion cultivars against onion thrips. *Journal of Entomological Research*, 44(4), 547-554. doi: 10.5958/0974-4576.2020.00092.4
- Reitz, S. R., Gao, Y., Kirk, W., Hoddle, M., Leiss, K., & Funderburk, J. (2020). Invasion biology, ecology, and management of western flower thrips. *Annual Review of Entomology*, 65(1), 17-37. doi: 10.1146/annurev-ento-011019-024947
- Rotenberg, D., Jacobson, A., Schneewis, D., & Whitfield, A. (2015). Thrips transmission of tospoviruses. *Current Opinion in Virology*, 15(1), 80-89. doi: 10.1016/j.coviro.2015.08.003
- Samaniego-Gómez, B., Reyes-Ramírez, A., Moreno-Valenzuela, O., y Tun-Suárez, J. (2017). Resistencia sistémica inducida contra virus fitopatógenos mediada por la inoculación con la rizobacteria *Bacillus* spp. *Revista Protección Vegetal*, 32(1), 10-22.
- Sampagani, R., Mohan, S., & Pappu, H. (2007). Identification of new alternative weed host for *Iris yellow spot virus* in the pacific northwest. *Plant Disease*, 91(12), 1683-1683. doi: 10.1094/PDIS-91-12-1683B
- Sastry, K., Mandal, B., Hammond, J., Scott, S., & Briddon, R. (2019). *Encyclopedia of plant viruses and viroids*. New Delhi, India: Springer Nature India.

- Schwartz, H., Gent, D., Fichtner, S., Otto, K., Boateng, O., Szostek, S...Mahaffey, L. (2014). *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) and Iris yellow spot virus associated with onion transplants, onion volunteers, and weeds in Colorado. *Southwestern Entomologist*, 39(4), 691-704. doi: 10.3958/059.039.041
- Shiberu, T., & Mahammed, A. (2014). The importance and management option of onion thrips, *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) in Ethiopia: A review. *Journal of Horticulture*, 1(2), 107-113. doi: 10.4172/2376-0354.1000107
- Singh, N., & Cramer, C. (2019). Improved tolerance for onion thrips and Iris yellow spot in onion plant introduction after two selection cycles. *Horticulturae*, 5(18). doi: 10.3390/horticulturae5010018
- Smith, E., Ditommaso, A., Fuchs, A., Shelton, M., & Nault, B. (2011). Weed hosts for onion thrips (Thysanoptera: Thripidae) and their potential role in the epidemiology of Iris yellow spot virus in an onion ecosystem. *Population Ecology*, 40(2), 194-203. doi: 0.1603/EN10246
- Smith, E., Schields, E., & Nault, B. (2016). Impact of abiotic factors on onion thrips (Thysanoptera: Thripidae) aerial dispersal in an onion ecosystem. *Environmental Entomology*, 45(5), 1115-1122. doi: 10.1093/ee/nvw089
- Smith, T., Wylie, S., Coutts, B., & Jones, R. (2006). Localized distribution of Iris yellow spot virus within leeks and its reliable large-scale detection. *Plant disease*, 90(6), 729-733. doi: 10.1094/PD-90-0729
- Smirnova, I., Schneider, Y., & Karimova, E. (2016). *Trichoderma* L-Lysine- $\alpha$ -Oxidase producer strain culture fluid inhibits *Impatiens Necrotic Spot Virus*. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 160(3), 343-346.

- Somnath, K., Pratibha, P., & Sanjeev, K. (2017). Host preference by evolving insect vectors in relation to infection of plant viruses. En Abhijeet, G. & Mohammad, A. (Eds). *The Phytopathogen: Evolution and Adaptation* (260-303). Ontario, Canada: Apple Academic Press.
- Sutula, C., Gillet, J., Morrissey, S., & Ramsdall, D. (1986). Interpreting ELISA data and establishing the positive-negative threshold. *Plant disease*, 70(8), 722-726.
- Sunpapao, A. (2012). The occurrence and disease incidence of tospovirus infecting pepper (*Capsicum annuum* L.) in southern Thailand. *The Philippine Agricultural Scientist*, 95(4), 411-415.
- Teshika, J., Zakariyyah, A., Zaynab, T., Zengin, G., Rengasamy, K., Pandian, S., & Fawzi, M. (2018). Traditional and modern uses of onion bulb (*Allium cepa* L.): a systematic review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(1), 39-70. doi: 10.1080/10408398.2018.1499074
- Thompson, J. (1988). Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. *Entomologia experimentalis et applicata*, 47(1), 3-14.
- Tian, X., Zheng, Y., Chintaluri, K., & Meng, B. (2013). First report of Impatiens necrotic spot virus on *Hiemalis begonia* (*Begonia hiemalis*) in Canada. *Plant Disease*, 97(2), 291-291. doi: 10.1094/PDIS-09-12-0868-PDN
- du Toit, L., Pappu, H., Druffel, K., & Pelter, G. (2004). Iris yellow spot virus in onion bulb and seed crops in Washington. *Plant Disease*, 88(2), 222. doi: 10.1094/PDIS.2004.88.2.222A
- Torres-Vila, L., Lacasa, A., Bielza, P., y Meco, R. (1994). Dinámica poblacional de *Thrips tabaci* Lind. (Thysanptera: Thridae) sobre liláceas hortícolas en Castilla-La Mancha. *Boletín de Sanidad Vegetal: Plagas*, 20(3), 661-677.

- Trebicki, P. (2020). Climate change and plant virus epidemiology. *Virus Research*, 286(1). doi:10.1016/j.virures.2020.198059
- Truman, J., & Riddiford, L. (2019). The evolution of insect metamorphosis: a developmental and endocrine view. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 374(1783). doi: 10.1098/rstb.2019.0070
- Tzanetakis, I., Guzmán-Baney, T., van Esbroeck, P., Fenandez, G., & Marin, R. (2009). First report of *Impatiens necrotic spot virus* in Blackberry in the southeastern United States. *Plant Disease*, 93(4), 432-432. doi: 10.1094/PDIS-93-4-0432A
- Ullman, D., Cho, J., Mau, R., Westcot, D., & Cuester, D. (1992). A midgut barrier to tomato spotted wilt virus acquisition by adult western flower thrips. *Phytopathology*, 82(11), 1333-1342.
- Ullman, D., Meideros, R., Campbell, L., Whitfield, A., Sherwood, J., & German, T. (2002). Thrips as vectors of Tospoviruses. *Advances in Botanical Research*, 36(6), 113-140. doi: 10.1016/S0065-2296(02)36061-0
- Whitfield, A., Falk, B., & Rotenberg, D. (2015). Insect vector-mediated transmission of plant viruses. *Virology*, 479(1), 278-289. doi: 10.1016/j.virol.2015.03.026
- Zhang, S., Mound, L., & Feng, J. (2019). Morphological phylogeny of Thripidae (Thysanoptera: Terebrantia). *Invertebrate systematics*, 33(4), 671-696. doi: 10.1071/IS19001
- Zhang, Z., Zheng, K., Zhao, L., Su, X., Zheng, X., & Wang, T. (2021). Occurrence, distribution, evolutionary relationships, epidemiology, and management of *Orthotospovirus* in China. *Frontiers in Microbiology*, 12(1), 194-205. doi: 10.3389/fmicb.2021.686025
- Zhao, K., Margaria, P., & Rosa, C. (2018). Characterization of the first complete genome of an *Impatiens necrotic spot orthotospovirus* isolate from the United States and worldwide



phylogenetic analyses of INSV isolates. *BMC Research Notes*, 11(1), 288. doi: 10.1186/s13104-018-3395-5

Zhao, K., & Rosa, C. (2021). Thrips as the transmission bottleneck for mixed infection of two *Orthospovirus*. *Plants*, 9(4), 509-523. doi: 10.3390/plants9040509

Zhao, J., Zhang, X., Hong, Y., & Liu, Y. (2016). Chloroplast in Plant-Virus Interaction. *Frontiers in Microbiology*, 7(1). doi: 10.3389/fmicb.2016.01565

Zheng, K., Chen, T., Wu, K., Kang, Y., Yeh, S., Zhang, Z., & Don, J. (2020). Characterization of a new *Orthospovirus* from chilli pepper in Yunnan province, China. *Plant Disease*, 104(4), 1175-1182. doi: 10.1094/PDIS-09-19-1925-RE

## 9. ANEXO

**Anexo 1.** Especies de plantas recolectadas en siembras de cebolla en la zona de Zarcero durante la temporada seca y lluviosa del 2021, analizadas mediante DAS-ELISA para la presencia de los virus fitopatógenos “Impatiens necrotic spot orthotospovirus” (INSV), “Iris yellow spot orthotospovirus” (IYSV), “leek yellow stripe virus” (LYSV) y “onion yellow dwarf virus” (OYDV).

<b>Especies</b>	<b>Total/INSV - positivas</b>	<b>Total/IYSV - positivas</b>	<b>Total/LYSV - positivas</b>	<b>Total/OYDV- positivas</b>
<i>Allium cepa</i>	260/0	260/22	108/0	108/0
<i>Amaranthus hybridus</i>	2/0	2/0	1/0	1/0
<i>Bidens pilosa</i>	4/0	4/0	2/0	2/0
<i>Brassica rapa</i>	5/0	5/0	4/0	4/0
<i>Calceolaria mexicana</i>	4/0	4/0	1/0	1/0
<i>Conyza bonariensis</i>	7/2	7/0	6/0	6/0
<i>Commelina diffusa</i>	1/0	1/0	NA	NA
<i>Cyperus mutisii</i>	1/0	1/0	NA	NA
<i>Bromus sp.</i>	2/0	2/0	1/0	1/0
<i>Digitaria abyssinica</i>	3/1	3/0	2/0	2/0
<i>Erechtites hieraciifolius</i>	1/0	1/0	NA	NA
<i>Euphorbia peplus</i>	1/0	1/0	NA	NA

<i>Galinsoga quadriradiata</i>	8/0	8/0	NA	NA
<i>Holcus lanatus</i>	1/0	1/0	1/0	1/0
<i>Hydrocotyle</i> sp.	1/0	1/0	NA	NA
<i>Ipomoea</i> spp.	2/0	2/0	1/0	0/1/0
<i>Lepidium virginicum</i>	1/0	1/0	NA	NA
<i>Oxalis</i> sp.	1/0	1/0	NA	NA
<i>Paspalum candidium</i>	6/1	6/0	4/0	4/0
<i>Poa annua</i>	2/0	2/0	2/0	2/0
<i>Polygonum persicaria</i>	4/0	4/0	2/0	2/0
<i>Raphanus raphanistrum</i>	4/0	4/0	2/0	2/0
<i>Setaria viridis</i>	1/0	1/0	1/0	1/0
<i>Solanum tuberosum</i>	2/0	2/0	1/0	1/0
<i>Sonchus oleraceus</i>	3/0	3/0	2/0	2/0
<i>Tripogandra purpurascens</i>	1/0	1/0	NA	NA

---

**Nota.** NA= muestras no analizadas.