

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad Ciencias de la Vida

Diseño de medidas de prevención y dispersión de *Schlumbergera Virus X* (SchVX) en campos de producción de pitahaya roja (*Hylocereus undatus*).

PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

Ingeniero Agrícola y Biológico

Presentado por:

Santiago David Reyes Cabrera

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2022

DEDICATORIA

El presente proyecto lo dedico a mis padres Carlos y Julia, y a mis hermanos Andres y Yessica, quienes han sido mi apoyo e inspiración para no rendirme y cumplir mis objetivos de vida.

AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero agradecimiento a la Corporación Ecuatoriana para el Desarrollo de la Investigación y Academia, CEDIA, por el apollo financiero del presente trabajo de investigacion, desarrollo e innovación por medio del programa CEPRA, especialmente para el proyecto “Distribución, prevalencia y afectación de *Cactus virus X* y *Schlumbergera virus X* en plantaciones comerciales de pitahaya de Ecuador”.

A mi tutora, la doctora Lisbeth Espinoza, por haberme enseñado acerca de su área de conocimiento en sus proyectos de investigación.

Y a la máster Martha Sumba, por tener la buena predisposición de ayudarme durante todo mi trabajo.

DECLARACIÓN EXPRESA

“Los derechos de titularidad y explotación, me corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; *Santiago David Reyes Cabrera* y doy mi consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual”



Santiago David Reyes Cabrera

EVALUADORES

.....
María Isabel Jiménez, Ph.D.

PROFESOR DE LA MATERIA

.....
Lisbeth Espinoza Lozano, DPM

PROFESOR TUTOR

RESUMEN

La producción de pitahaya roja (*H. undatus*) en Ecuador tuvo un incremento en el 2021 debido a la gran acogida de esta fruta a nivel internacional. Actualmente, existen problemas fitosanitarios que podrían poner en riesgo a esta industria. Tal es el caso del virus *Schlumbergera Virus X*, el cual ha sido identificado por primera vez en el Ecuador en el 2022 y aún se encuentra en estudios. Sin embargo, la falta de conocimientos sobre cómo prevenirlo o identificarlo, podría representar un costo mayor en la producción de esta fruta. Por esta razón, en este proyecto se propone desarrollar una metodología de medidas de prevención y dispersión del virus *Schlumbergera Virus X* en campos de producción de pitahaya roja. El cual consta de cuatro fases: obtención del material vegetal, inoculación del virus, uso de desinfectantes y evaluación. Se realizaron cuatro controles haciendo uso de desinfectantes, entre ellos uno biológico a base de lipopeptidos de la bacteria *Bacillus subtilis* y tres químicos: alcohol, cloro y amonio cuaternario, con el objetivo de identificar cuál desinfectante era más eficaz. Así también, se llevó a cabo un tratamiento para conocer la transmisibilidad del virus y se elaboró una escala de síntomas de virus junto con una guía informativa. Los resultados indican que la transmisión del virus puede determinarse a través del uso de una escala de síntomas o con una prueba de PCR y que el uso de desinfectantes, al igual que un diagnóstico para identificar el virus, puede reducir pérdidas en la producción.

Palabras Clave: Pitahaya, Prevención, Dispersión, Virus, Escala de síntomas.

ABSTRACT

The production of dragon fruit (H. undatus) in Ecuador increased in 2021 due to the great reception of this fruit internationally. Currently, there are phytosanitary problems that could put this industry at risk. Such is the case of the Schlumbergera Virus X, which has been identified for the first time in Ecuador in 2022 and is still under study. However, the lack of knowledge on how to prevent or identify it could represent a higher price in the production of this fruit. For this reason, this project proposes the development of a methodology for prevention and dispersal measures of the Schlumbergera Virus X in red dragon fruit production fields. Which consists of four phases: obtaining plant material, virus inoculation, use of disinfectants and evaluation. Four controls were carried out using disinfectants, including a biological one based on lipopeptides from the B. subtilis bacterium and three chemicals: alcohol, chlorine and quaternary ammonium, with the aim of identifying which disinfectant was more effective. In addition, a treatment was carried out to establish the transmissibility of the virus and a scale of virus symptoms was prepared together with an informative guide. The results indicate that the transmission of the virus can be determined through a symptom scale or with a PCR test and that the use of disinfectants, as well as a diagnosis to identify the virus, can decrease production losses.

Keywords: Dragon fruit, Prevention, Dispersion, Virus, Symptom scale.

ÍNDICE GENERAL

EVALUADORES.....	5
RESUMEN.....	I
<i>ABSTRACT</i>	II
ÍNDICE GENERAL.....	III
ÍNDICE DE FIGURAS.....	V
ÍNDICE DE TABLAS.....	VI
CAPÍTULO 1.....	7
1 Introducción.....	7
1.1 Descripción del problema.....	7
1.2 Justificación del problema.....	7
1.3 Objetivos.....	8
1.3.1 Objetivo General.....	8
1.3.2 Objetivos Específicos.....	8
1.4 Marco teórico.....	8
1.4.1 Generalidades del cultivo de pitahaya.....	8
1.4.2 Patógenos asociados al cultivo de pitahaya.....	9
1.4.3 El virus <i>Schlumbergera Virus X</i> en el cultivo de pitahaya.....	9
1.4.4 Métodos de detección de virus en plantas.....	10
1.4.5 Tipos de desinfección de herramientas agrícolas.....	10
CAPÍTULO 2.....	13
2 Metodología.....	13
2.1 Área de estudio.....	13
2.2 Preparacion de material vegetal.....	14

2.3	Identificación y elaboración de escala de síntomas de virus.....	14
2.4	Tratamientos del prototipo	14
2.5	Evaluación de resultados.....	15
2.6	Elaboración de diseño de la guía	15
2.7	Análisis de costos de material vegetal.....	15
CAPÍTULO 3		16
3	Resultados Y ANÁLISIS.....	16
3.1	Escala de síntomas de virus.....	16
3.2	Análisis visual y prueba PCR.....	18
3.3	Guía informativa sobre el virus SchVX.....	20
3.4	Costos del material vegetal	20
CAPÍTULO 4		21
4	Conclusiones Y Recomendaciones	21
4.1	Conclusiones	21
4.2	Recomendaciones.....	21
BIBLIOGRAFÍA.....		22
ANEXOS		26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Identificación del alcohol etílico. Fuente: (Studocu, Hoja de seguridad Etanol, 2016).....	10
Figura 2. Identificación de peligro del alcohol etílico. Fuente: (Studocu, Hoja de seguridad Etanol, 2016).....	11
Figura 3. Identificación del hipoclorito de sodio. Fuente: (Studocu, Hipoclorito de sodio, normas de seguridad, 2020).....	11
Figura 4. Identificación de peligro del hipoclorito de sodio. Fuente: (Studocu, Hipoclorito de sodio, normas de seguridad, 2020)	11
Figura 5. Estructura básica de un compuesto de amonio cuaternario. Fuente: (Aguilera, 2022)	12
Figura 6. Diagrama de la metodología.....	13
Figura 7. Plantas de pitahaya con virus SchVX. Fuente: Autor	16
Figura 8. Cladodios vistos desde un estereoscopio. Imagen izquierda: planta 3 (T1). Imagen derecha: planta 8 (T1).....	18
Figura 9. Muestras de los tratamientos, tomadas para la prueba de PCR.	19
Figura 10. Electroforesis de prueba PCR para virus SchVX	19
Figura 11. Guía informativa sobre virus SchVX.....	20

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos y productos.	15
Tabla 2. Escala de síntomas de virus SchVX.	17

CAPÍTULO 1

1 INTRODUCCIÓN

En el 2021, Ecuador tuvo un incremento en la producción de pitahaya roja debido a la gran acogida del producto a nivel internacional. En donde se llegó a exportar cerca de 17.895 toneladas de fruta, lo que represento un incremento de casi el 60% en comparación con el 2020 donde se exportaron 11.260 toneladas. Se estima, que en el 2027 el área de producción de las variedades de pitahaya, serán de aproximadamente 3.000 Ha de pitahaya roja y 6.042 Ha de pitahaya amarilla (Wilkinson, 2022; Agrocalidad, 2021).

El problema se encuentra en la falta de conocimiento, a nivel científico y por parte de los agricultores, sobre la importancia de usar material vegetal libre de enfermedades y de la desinfección de herramientas agrícolas. Los cuales pueden evitar la propagación de virus en pitahaya, ya que estos podrían llegar a afectar de manera significativa en el cultivo, al desarrollo y producción, ocasionando perdidas en la comercialización del fruto (Li, Mao, & Lu, 2015).

1.1 Descripción del problema

El problema se encuentra en la falta de conocimientos, por parte de los agricultores, sobre la importancia de la práctica cultural de trabajar con productos de desinfección de herramientas agrícolas. Los cuales pueden controlar la propagación de virus en pitahaya, ya que estos podrían llegar a afectar de manera significativa en el cultivo, al desarrollo y producción, ocasionando perdidas en la comercialización del fruto.

1.2 Justificación del problema

La producción de pitahaya roja (*Hylocereus undatus*) en Ecuador se ha incrementado considerablemente durante los últimos cuatro años debido a la gran acogida del producto a nivel internacional. Actualmente, existen varios problemas fitosanitarios que podrían poner en riesgo a esta industria por la falta de estudio y conocimiento sobre su manejo en campo. Muchos de estos problemas están siendo reportados por primera vez en el país, tal es el caso del virus *Schlumbergera Virus X*. El cual, se desconoce el impacto que este puede tener en los niveles de producción y calidad de los frutos, sin embargo, se ha comprobado que su transmisión puede darse de manera mecánica mediante el uso de herramientas contaminadas y por el uso de material de propagación infectado

(Soto et. Al, 2014). Por esta razón, se propone realizar un diseño de medidas de prevención y dispersión de este virus (SchVX) en pitahaya roja para lograr mejores cosechas y minimizar los impactos fitosanitarios que afectan directamente la plantación.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Determinar la transmisión de *Schlumbergera Virus X* (SchVX) en pitahaya roja (*H. undatus*) mediante métodos culturales de desinfección de herramientas en el manejo de la plantación.

1.3.2 Objetivos Específicos

1. Evaluar la capacidad de trasmisión mecánica de *Schlumbergera Virus X* (SchVX) en pitahaya roja (*H. undatus*) mediante el uso de herramientas bajo condiciones semicontroladas.
2. Estimar el potencial de inactivación de *Schlumbergera Virus X* (SchVX) mediante el uso de cuatro productos comerciales usados para la desinfección de herramientas.
3. Elaborar material informativo con recomendaciones para el manejo de *Schlumbergera Virus X* (SchVX) en plantaciones de pitahaya roja (*H. undatus*).

1.4 Marco teórico

1.4.1 Generalidades del cultivo de pitahaya

La pitahaya es una cactácea del neotrópico que cuenta con 18 especies pertenecientes al género *Selenicereus* y *Hylocerus*. En los países de América se encuentra en México, Guatemala, Guayana Francesa, Venezuela, Ecuador, Perú y Bolivia (Medina, Rebolledo, Kondo, & Toro, 2014). Las especies más utilizadas a nivel mundial con fines comerciales son *H. monacanthus*, *H. costaricensis*, *H. megalanthus* y *H. undatus*, siendo esta última la especie cuyo fruto de color rojo con pulpa blanca, la más cultivada a nivel internacional, debido a su gran adaptabilidad a diferentes factores climáticos (Cerén, 2020).

Las cactáceas son plantas cuyo tallo puede ser no segmentado, columnar, acanalado y con o sin zonas reproductivas diferenciadas. Sus flores son sésiles y

su apertura puede ser diurna o nocturna, el pericarpio puede ser desnudo o escamoso y los tubos florales pueden ser alargados o cortos (Gorinstein & Zemser, 2014). Las plantas del género *Hyloceris* son trepadoras y epífitas, de ramas o cladodios con areolas de los cuales generalmente brotan espinas y sus flores son nocturnas (Ortiz & Carrillo, 2012).

1.4.2 Patógenos asociados al cultivo de pitahaya

Hasta el 2019, se registraron 17 géneros y 25 especies de patógenos que afectan a la planta de pitahaya. En su mayoría, las enfermedades fúngicas son las causantes de mayores daños en el tallo, fruto y flores. Sin embargo, también existen enfermedades de nematodos, bacterianas y virales que afectan a los tallos y frutos. Entre los patógenos de mayor importancia económica se tiene; *Bipolaris cactivora* y *Neoscytalidium dimidiatum* que afecta a tallos y frutos, antracnosis ocasionada por *Colletotrichum spp.*, y la enfermedad viral *Cactus virus X* (Balendres & Bengoa, 2019; Espinoza, Sumba, & Calero, 2022). Además, se siguen registrando nuevos patógenos que ponen en riesgo a la pitahaya, tal es el caso del virus *Schlumbergera Virus X* (SchVX), el cual ha sido reportado oficialmente en el continente americano por Brasil (Duarte, et al. 2008) y Estados Unidos (Gazis, et al. 2018). No obstante, en el 2022 en Ecuador, se confirmó la presencia de este virus en plantaciones de pitahaya roja (Artículo en revisión).

1.4.3 El virus *Schlumbergera Virus X* en el cultivo de pitahaya

El *Schlumbergera virus X* pertenece al género *Potexvirus* al igual que el *Cactus virus X*, produce síntomas como: moteados, manchas anulares y clorosis que pueden ser leves, casi imperceptibles o muy marcadas (Li, Mao, & Lu, 2015). Además, se conoce que este patógeno puede ser propagado a través de reproducción asexual, mediante el uso de herramientas agrícolas infectadas o incluso por el contacto entre raíces en el suelo, dificultando se control (Soto et. Al, 2014). Así, también este virus puede estar asociado con otras infecciones, pero al tratarse de un virus reciente en la pitahaya sus efectos negativos en los frutos, han sido poco estudiados (Janssen, Garcia, & Ruiz, 2021).

1.4.4 Métodos de detección de virus en plantas

La detección de virus en las plantas puede ser realizada mediante métodos serológicos. Normalmente, se requieren de dos o más técnicas para identificar un virus a nivel de variante de una especie, especialmente cuando son nuevos virus. Los métodos más utilizados son dos, el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA), la cual trabaja con las proteínas dianas, ya que estas tienen un papel importante en la patogénesis de la enfermedad. Y, por otro lado, la reacción de cadena de la polimerasa (PCR), en cambio, estas pruebas detectan el ADN o ARN de un patógeno o células anormales de una muestra, permitiendo identificar la presencia de un virus (FAO, 2007; Müller, 2019).

1.4.5 Tipos de desinfección de herramientas agrícolas

Los tipos de desinfectantes utilizados en campo por los agricultores para evitar la propagación de patógenos son de carácter químico, biológico y físico. Los desinfectantes químicos pueden llegar a ser tóxicos en dosis muy altas, mientras que los desinfectantes biológicos o físicos no son tóxicos y tienen un bajo impacto ambiental (Calva, 2016). Entre los desinfectantes comúnmente usados por los agricultores tenemos:

1.4.5.1 Alcohol etílico (etanol)

Es el desinfectante más conocido y universalmente utilizado, tiene propiedades fungicidas, bactericidas y viricidas, pero no destruye las esporas bacterianas. El mecanismo de acción de este desinfectante es la desnaturalización de las proteínas plasmáticas, destruye la cápside vírica que rodea algunos virus y de esta forma los elimina. Es empleado a diferentes concentraciones con agua siendo la más óptima en un rango de 60 a 90% (Guerra, 2005; Talavera & Menéndez, 2020).

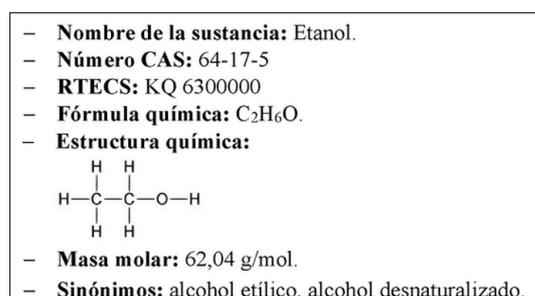


Figura 1. Identificación del alcohol etílico. Fuente: (Studocu, Hoja de seguridad Etanol, 2016)

Descripción de peligros: 

Líquidos inflamable

Información pertinente a los peligros para el hombre y el ambiente:
Este producto es altamente inflamable, mantener alejado de fuentes de ignición.

Sistemas de clasificación:
-NFPA(escala 0-4): 

-HMIS(escala 0-4):

SALUD	2
INFLAMABILIDAD	3
REACTIVIDAD	0
PROTECCIÓN PERSONAL	E

Figura 2. Identificación de peligro del alcohol etílico. Fuente: (Studocu, Hoja de seguridad Etanol, 2016)

1.4.5.2 Hipoclorito de sodio

El hipoclorito de sodio es un desinfectante universal, que tiene una alta efectividad al control de microorganismos, virus y bacterias vegetales, pero es menos efectivo contra esporas bacterianas, hongos y protozoarios. Su mecanismo de acción es la deshidratación y solubilización de las proteínas presentes en las cepas de envoltura del virus provocando su desintegración. Este compuesto es utilizado en varias concentraciones que van desde el 3 al 6% de cloro y es fuertemente oxidante corrosivo (Medina E. , 2021; Talavera & Menéndez, 2020).

- **Nombre de la sustancia:** Hipoclorito de sodio
- **Número CAS:** 7681-52-9.
- **RTECS:** No disponible.
- **Fórmula química:** NaClO
- **Estructura química:**

$$\text{Na}^+ \left[\begin{array}{c} \text{O} \\ | \\ \text{Cl} \\ / \quad \backslash \\ \text{O} \quad \text{O} \end{array} \right]^-$$

- **Masa molar:** 74,455 g/mol.

Figura 3. Identificación del hipoclorito de sodio. Fuente: (Studocu, Hipoclorito de sodio, normas de seguridad, 2020)

Descripción de peligros:  

Comburente Corrosivo

Información pertinente a los peligros para el hombre y el ambiente:
Irritante y corrosivo. Produce sensibilización cutánea. Considerado mutagénico. Tóxico para los pulmones, membranas mucosas, piel y ojos. La sustancia es tóxica para los organismos acuáticos.

Sistemas de clasificación:
-NFPA(escala 0-4): 

-HMIS(escala 0-4):

SALUD	3
INFLAMABILIDAD	0
REACTIVIDAD	1

Figura 4. Identificación de peligro del hipoclorito de sodio. Fuente: (Studocu, Hipoclorito de sodio, normas de seguridad, 2020)

1.4.5.3 Amonio cuaternario

Los compuestos a base de amonio cuaternario son sustancias bioquímicas naturales, mientras que los amonios cuaternarios sintéticos son surfactantes catiónicos, que se usan como desinfectantes eficaces, no tóxicos y biodegradables. Tienen un amplio espectro de actividad antibacteriana, fungicida, antivírica y esporicida (Aguilera, 2022).

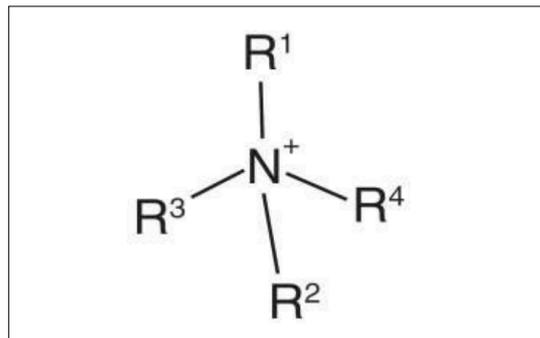


Figura 5. Estructura básica de un compuesto de amonio cuaternario. Fuente: (Aguilera, 2022)

Desinfectante biológico:

1.4.5.4 Lipopeptidos producidos por la bacteria *Bacillus subtilis*

Las bacterias pertenecientes al género *Bacillus*, son utilizadas para la producción de una amplia gama de lipopeptidos biológicamente activos, entre ellos; las surfactinas, fengicinas e iturinas. Estos pueden antagonizar directamente a los fito-patógenos e inducir resistencias sistémicas en las plantas. Debido a que, tienen la capacidad de disminuir la incidencia de enfermedades, ya que son inhibidores en el crecimiento de microorganismos patógenos. (Beltrán, Macedo, & Villafaña, 2015; Valenzuela, Gálvez, & Villa, 2020).

CAPÍTULO 2

2 METODOLOGÍA

En el siguiente diagrama se muestra la forma en que se llevará a cabo la metodología de trabajo del proyecto:



Figura 6. Diagrama de la metodología.

2.1 Área de estudio

El experimento se llevó a cabo en un vivero de la Facultad de Ciencias de la Vida de la ESPOL, dentro del Campus Gustavo Galindo de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), en el km 30.5 de la vía perimetral.

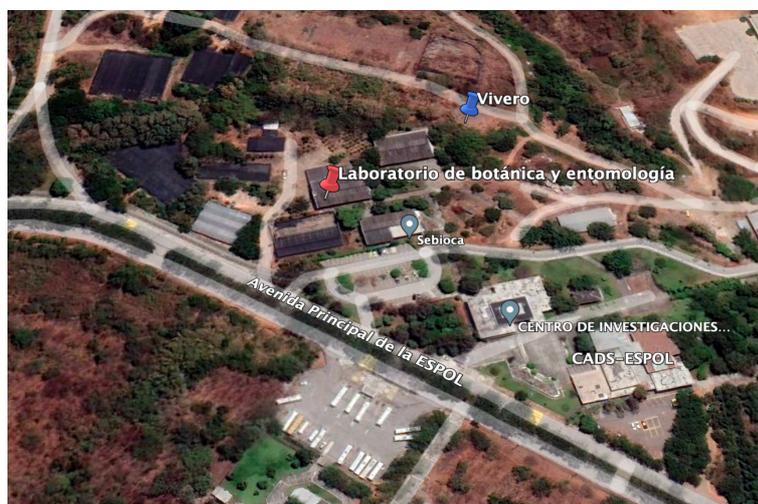


Imagen 1. Ubicación del vivero. Fuente: Google Earth

2.2 Preparación de material vegetal

El material vegetal se lo obtuvo de una finca productora de pitahaya roja (*H. undatus*), ubicada en la parroquia Gómez Rendón (Progreso), perteneciente a la provincia del Guayas. Se siguió los métodos de propagación del manual del cultivo de la pitahaya (Wu, 2005), los cuales consisten en cortar los cladodios en forma de "V" y a una longitud determinada. Las herramientas utilizadas se desinfectaron con alcohol al 70%, posteriormente se realizó una prueba de virus a todos los cladodios mediante una PCR y se dejaron en cicatrización por 48 horas.

El sustrato se preparó mezclando 75% de suelo limo-arcilloso y 25% de materia orgánica. Finalmente, se llevó a cabo el llenado de las fundas de vivero y se procedió a la siembra del material vegetal, dando un tiempo de enraizamiento durante 45 días (Anexo 1).

2.3 Identificación y elaboración de escala de síntomas de virus

Basándose en el artículo "Plant disease severity estimated visually" de H. Bock, Chiang, & Del Ponte, se decidió elaborar una escala arbitraria de síntomas de virus en plantas de pitahaya (H. Bock, Chiang, & Del Ponte, 2021).

Para la elaboración de la escala de síntomas se utilizaron y compararon plantas de pitahaya con diferentes niveles de sintomatología del virus SchVX en sus cladodios. Se estableció cinco grados o niveles de daños considerando el porcentaje de tejido con síntomas de la enfermedad, a los cuales se enumeró del uno al cinco, siendo uno el nivel de daño con síntomas más bajo (0% visible) y cinco el nivel de daño con síntomas más alto (más del 60% visible).

2.4 Tratamientos del prototipo

En este proyecto se implementó un diseño completamente al azar (DCA) de cinco tratamientos con diez repeticiones. Se usó tres productos químicos y un producto biológico, con una dosis única por producto en la desinfección de las tijeras de podar.

Los esquejes empleados se mantuvieron en proceso de enraizamiento por 30 días, posteriormente se realizaron los experimentos y se mantuvieron en condiciones de invernadero por 45 días al control de transmisibilidad y 60 días los experimentos de desinfección para su posterior evaluación.

En el control de transmisibilidad se procedió a realizar varios cortes una sola vez a la planta con virus y después cuatro cortes a cada planta sana, sin usar ningún producto

de desinfección. Por otro lado, para los tratamientos primero se desinfectó las tijeras de podar, seguido se realizaron cuatro cortes a la planta con virus, se desinfectó nuevamente y se realizó cuatro cortes a la planta sana, esto con el objetivo de simular la labor de poda que se realiza en campo. La desinfección se la hizo directamente con el uso de un atomizador y las dosis utilizadas de los desinfectantes fueron: alcohol al 70%, cloro al 5%, amonio cuaternario al 5% y *B. subtilis* al 5%.

Tabla 1. Tratamientos y productos.

Tratamiento	Producto
T0	Testigo
T1	Control de transmisibilidad (sin producto)
T2	Alcohol al 70%
T3	Cloro al 5%
T4	Amonio cuaternario al 5%
T5	<i>B. subtilis</i> al 5%

2.5 Evaluación de resultados

Una vez transcurridos los 45 y 60 días del control de transmisibilidad y los tratamientos con los productos de desinfección, se realizó la evaluación de la eficacia de los tratamientos con los productos, de forma visual por medio de la escala de síntomas y mediante una prueba de PCR.

2.6 Elaboración de diseño de la guía

Se diseñó la guía haciendo uso de la herramienta de diseño llamada “Canva”, en la cual se incluyó el siguiente contenido:

- Breve descripción del virus *Schlumbergera Virus X*
- Identificación del virus con escala de síntomas.
- Recomendaciones.

2.7 Análisis de costos de material vegetal

En el análisis de costos se tomó en cuenta los valores comerciales de los esquejes o cladodios para implementar una hectárea de cultivo de pitahaya. Así también, se consideró los costos de realizar una prueba de virus mediante una PCR y las diferencias entre realizar una prueba de virus para garantizar que el cultivo esté sano y de no realizar una prueba de PCR.

CAPÍTULO 3

3 RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 Escala de síntomas de virus

La escala tuvo cinco grados o niveles de daños diferenciados en los cladodios de las plantas con virus utilizadas y las pruebas de PCR realizadas en estas plantas fue el 16 de febrero del 2022 (ver figura 7). Los porcentajes de daños fueron estimados de forma visual guiándose del artículo “Plant disease severity estimated visually” de H. Bock, Chiang, & Del Ponte, (2021).



Figura 7. Plantas de pitahaya con virus SchVX. Fuente: Autor

A continuación, se muestra la escala de síntomas de virus con su respectiva descripción en cada nivel de daño, así también se adjunta una imagen representativa que ayuda a diferenciar los síntomas en cada uno de estos niveles.

Tabla 2. Escala de síntomas de virus SchVX.

Escala de daño	Descripción	
1	Manchas redondeadas cloróticas leves, menor a un 10% del cladodio y sin manchas anulares.	
2	Manchas cloróticas redondeadas más notorias entre un 10 a 20% del cladodio y sin manchas anulares.	
3	Manchas cloróticas redondeadas notorias entre un 20 a 30% del cladodio y presencia de manchas anulares.	
4	Manchas cloróticas y manchas anulares entre un 30 a 50% del cladodio con dimensiones entre 0.5 a 1 cm.	
5	Manchas cloróticas y manchas anulares de más de 1 cm de diámetro, muy notorias entre un 50 a 70%. Las manchas se fusionan entre sí, formando grandes masas cloróticas.	

3.2 Análisis visual y prueba PCR

Con el uso de la escala de síntomas, se trató de identificar entre todas las plantas, aquellas que contengan algún síntoma. Únicamente las plantas tres y ocho (figura 8), del control de transmisibilidad, mostraron síntomas similares a la escala de daño de tipo 1 y 2, pudiéndose tratar de la presencia del virus. Por otro lado, los tratamientos en los cuales se utilizó desinfectantes no mostraron ningún tipo de síntoma hasta el día que se realizó la evaluación. Dado que los desinfectantes tienen la capacidad de eliminar los virus presentes en las herramientas, estos podrían haber detenido su propagación. Sin embargo, no se podría comprobar de forma visual si el virus estaba presente en las plantas, hasta no llevar a cabo una prueba de PCR.

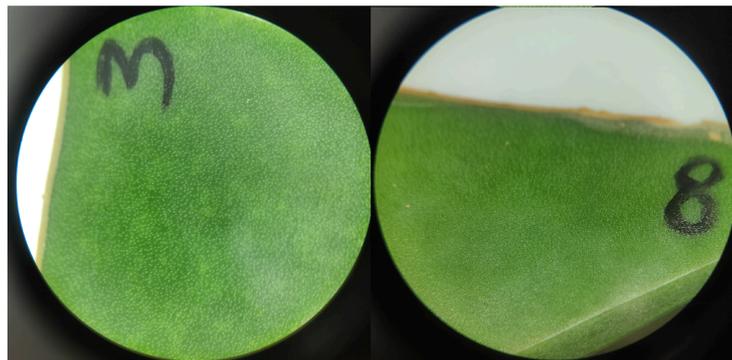


Figura 8. Cladodios vistos desde un estereoscopio. Imagen izquierda: planta 3 (T1). Imagen derecha: planta 8 (T1).

Las muestras tomadas de los experimentos de forma aleatoria para la realización de la prueba de PCR, se pueden visualizar en la figura 9. Los síntomas en estas muestras no eran visibles en la mayoría de las plantas, esto podría deberse al poco tiempo que se las tuvo en el invernadero, aun así, se trató de tomar muestras que pudieran presentar alguna sintomatología similar a la de la escala de virus. En el análisis de los tratamientos T0, T2, T4 y T5, las cinco muestras tomadas de un total de diez muestras por tratamiento, no presentaron sintomatología, mientras que para el tratamiento T1, en donde se tomaron todas las diez muestras para evaluar la transmisibilidad, únicamente la muestra tres y ocho tuvieron síntomas visibles.

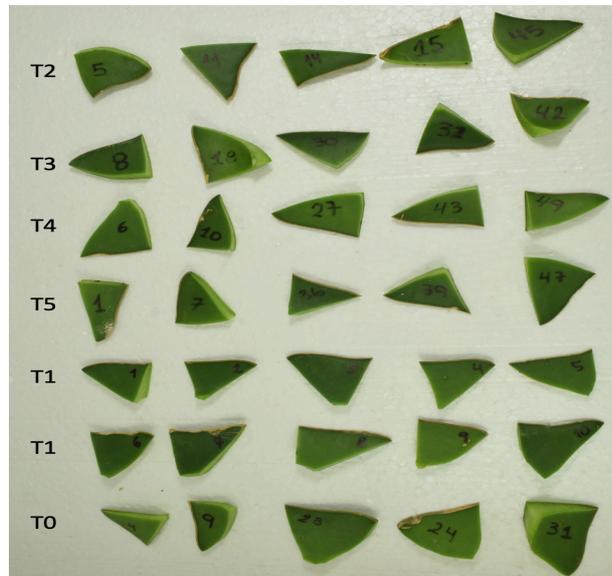


Figura 9. Muestras de los tratamientos, tomadas para la prueba de PCR.

Los resultados de la electroforesis de la prueba de PCR para virus SchVX se pueden visualizar en la figura 10. Todas las muestras analizadas presentaron resultados negativos, lo cual quiere decir que hasta el momento de esta evaluación ninguna planta contiene al virus. Esto podría deberse a que las plantas con virus utilizadas para la inoculación no contenían una alta carga viral, razón por la cual, tendrían una baja transmisibilidad. Así también, que los cortes realizados para la inoculación en los tratamientos no fueron suficientes (4 cortes), para lograr transmitir una cantidad suficiente del inóculo, en campo al momento de realizar labores de podas, estos pueden exceder los 25 cortes por planta.

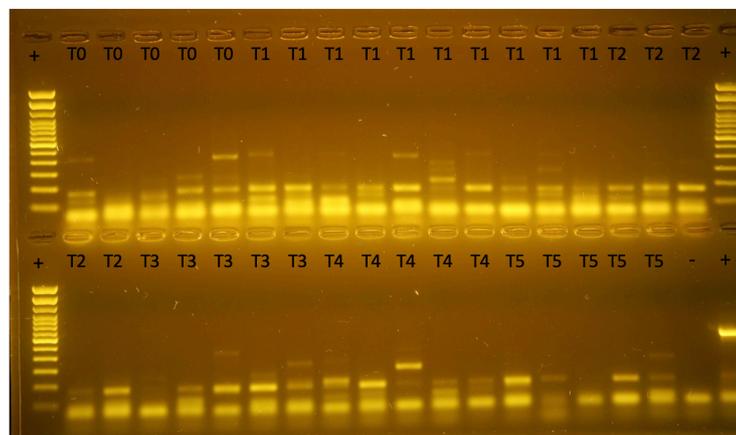


Figura 10. Electroforesis de prueba PCR para virus SchVX

3.3 Guía informativa sobre el virus SchVX

La guía informativa sobre el virus SchVX en pitahaya puede visualizarse en la figura 11. Esta contiene una breve descripción del virus, lo cual pretende demostrar la importancia de conocer este virus en campo. Así también, muestra una escala de síntomas para que las personas, ya sean agricultores, productores o investigadores de pitahaya, les sea de ayuda para identificar este virus en campo y así, puedan aplicar medidas de prevención y dispersión.



Schlumbergera Virus X (SchVX)

¿QUÉ ES?
Es un virus que pertenece al género Potexvirus al igual que el *Cactus virus X*, afecta únicamente a la familia de las cactáceas como lo es la pitahaya.

SINTOMAS

- ▣ Moteados
- ▣ Manchas anulares
- ▣ Clorosis



¿CÓMO IDENTIFICARLO?

- ▣ En cultivos establecidos o en viveros se pueden identificar los síntomas y así, realizar pruebas de PCR.
- ▣ Se puede hacer uso de una escala de síntomas de virus SchVX para identificar mejor esta enfermedad.

Escala de síntomas de virus SchVX

Escala de daño	Descripción
1	Manchas redondeadas cloróticas leves, menor a un 10% del cladodio y sin manchas anulares.
2	Manchas cloróticas redondeadas más notorias entre un 10 a 20% del cladodio y sin manchas anulares.
3	Manchas cloróticas redondeadas notorias entre un 20 a 30% del cladodio y presencia de manchas anulares.
4	Manchas cloróticas y manchas anulares entre un 30 a 50% del cladodio con dimensiones entre 0.5 a 1 cm.
5	Manchas cloróticas y manchas anulares de más de 1 cm de diámetro, muy notorias entre un 50 a 70%. Las manchas se fusionan entre sí, formando grandes masas cloróticas.

RECOMENDACIONES

- ▣ Utilizar desinfectantes en herramientas agrícolas, ayuda a prevenir el virus.
- ▣ Al comprar material vegetal, se debe hacer pruebas de PCR para garantizar que esta libre de virus.
- ▣ Usar la escala de síntomas ayudara a identificar si hay presencia del virus en campos o en viveros.
- ▣ Mantener un cultivo sano ayudara a mantener mejores producciones.



Elaborado por:
Santiago Reyes

Revisado por:
Lisbeth Espinoza, DPM

Figura 11. Guía informativa sobre virus SchVX.

3.4 Costos del material vegetal

El costo del material vegetal, según revisión bibliográfica (Vera, 2016; Muñoz, 2018), para implementar en una hectárea de pitahaya, cuya densidad de siembra es de 3 x 3 metros, es de 4.444 USD. Cada cladodio o esqueje tiene un costo promedio de 2 USD en el mercado y en una hectárea se emplean 2.222 esquejes, sin embargo, este material vegetal no cuenta con certificaciones de que este libre de virus, razón por la cual, se recomienda realizar pruebas de PCR que garanticen que el material a adquirir no contenga virus. El costo de una prueba de virus a través del tejido vegetal tiene un costo de 30,84 USD aproximadamente (INIAP, 2022).

CAPÍTULO 4

4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

1. La transmisión mecánica del virus SchVX, puede determinarse a través del uso de una escala arbitraria de síntomas de virus y una prueba de PCR.
2. Se utilizó cuatro desinfectantes, entre ellos; alcohol al 70%, cloro al 5%, amonio cuaternario al 5% y B. subtilis al 5%. En las evaluaciones preliminares ningún tratamiento presentó síntomas o resultados positivos en la PCR.
3. Se elaboró una guía con información y recomendaciones sobre el virus SchVX, la cual servirá de ayuda para los agricultores, productores o investigadores de pitahaya.
4. El costo de material vegetal para una hectárea de pitahaya cuya densidad de siembra es de 3 x 3 metros es de 4.444 USD y el costo de una prueba de PCR es de 30,84 USD.

4.2 Recomendaciones

1. Utilizar plantas con virus, que presenten una mayor cantidad de síntomas y su carga viral sea muy alta.
2. Realizar más de 4 cortes en las plantas con virus y en las plantas a las cuales se vaya a inocular.
3. Mantener las plantas inoculadas por más tiempo para visualizar algún tipo de síntoma en un periodo posterior.
4. Realizar otras pruebas de transmisión del virus como la transmisión a través de sus raíces.

BIBLIOGRAFÍA

- Ortiz, Y., & Carrillo, J. (2012). *Pitahaya (Hylocereus spp.): a short review*. Oaxaca, Mexico: Dialnet.
- Wu, J. C. (31 de Enero de 2005). *Manual del cultivo de pitahaya*. Obtenido de <https://www.icta.gob.gt/publicaciones/Pitaya/Manual%20del%20cultivo%20de%20la%20Pitaya.pdf>
- FAO. (2007). *Detección del virus del mosaico del tabaco (VMT) por el método ELISA, utilizando la enzima peroxidasa*. Obtenido de <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=CU2003100257>
- Müller, G. (Abril de 2019). *Diagnóstico de virus fitopatógenos mediante las técnicas de DAS-ELISA, NCM-ELISA y RT-PCR*. Obtenido de <https://cgspace.cgiar.org/bitstream/handle/10568/108538/GMULLER-Diagnostico-Virologia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- H. Bock, C., Chiang, K.-S., & Del Ponte, E. (22 de Junio de 2021). *Plant disease severity estimated visually: a century of research, best practices, and opportunities for improving methods and practices to maximize accuracy*. Obtenido de <https://link.springer.com/article/10.1007/s40858-021-00439-z#citeas>
- Agrocalidad. (2021). *EXPORTACIONES DE PITAHAYA CRECIERON CASI 60% EN 2021*. Obtenido de <https://www.agrocalidad.gob.ec/exportaciones-de-pitahaya-crecieron-casi-60-en-2021/#:~:text=Durante%20el%20año%202021%2C%20se,que%20se%20envió%2011.260%20toneladas>
- Aguilera, D. (2022). *Toxicidad de desinfectantes a base de hipoclorito de sodio y amonio cuaternario en los seres humanos*. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/26164/1/UCE-FCQ-CBC-AGUILERA%20DANIEL.pdf>
- Balendres, M., & Bengoa, J. (5 de 08 de 2019). *Diseases of dragon fruit (Hylocereus species): Etiology and current management options*. Obtenido de <https://pdf.sciencedirectassets.com/271154/1-s2.0-S0261219419X00095/1-s2.0-S0261219419302662/am.pdf?X-Amz-Security->

=1%2Fo%2Bf4QLuNA%3D&Co=ztBzV%2F10sco%3D&Ca=p9XulnOECFqvVf7R
XaAxvJ%2Bn%2F2h14wo0jAQK7xtHmPlyN4UGPEgQlw%3D%3D&Ws=ztBzV%
2F10sco%3D&Keyword=ztBzV%2F10sco%3D

Medina, E. (2021). *Uso del hipoclorito de sodio como agente desinfectante*. Obtenido de <https://www.oirsa.org/contenido/2020/Guia%20para%20uso%20de%20cloro%20como%20desinfectante%20en%20establecimientos%2023.06.2020.pdf>

Medina, J., Rebolledo, A., Kondo, T., & Toro, J. (23 de 07 de 2014). *Generalidades del cultivo de pitahaya*. Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Takumasa-Kondo/publication/247152993_2_Generalidades_del_cultivo/links/53cf16380cf2f7e53cf7e8cf/2-Generalidades-del-cultivo.pdf

Studocu. (2016). *Hoja de seguridad Etanol*. Obtenido de <https://www.studocu.com/es-mx/document/benemerita-universidad-autonoma-de-puebla/quimica/hoja-de-seguridad-etanol/9401803>

Studocu. (2020). *Hipoclorito de sodio, normas de seguridad*. Obtenido de <https://www.studocu.com/ec/document/escuela-superior-politecnica-de-chimborazo/auditoria-de-gestion/hipoclorito-de-sodio-normas-de-seguridad/8147857>

Talavera, I., & Menéndez, A. (2020). *Una explicación desde la química: ¿por qué son efectivos el agua y jabón, el hipoclorito de sodio y el alcohol para prevenir el contagio con la COVID-19?* Obtenido de <http://revistaccuba.sld.cu/index.php/revacc/article/view/781/819>

Valenzuela, V., Gálvez, G., & Villa, E. (2020). *Lipopéptidos producidos por agentes de control biológico del género Bacillus: revisión de herramientas analíticas utilizadas para su estudio*. Obtenido de https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342020000200419

Wilkinson, R. (2022). *Ecuador's dragon fruit gains access to Chinese market*. Obtenido de <https://www.eurofresh-distribution.com/news/ecuadors-dragon-fruit-gains-access-to-chinese-market/>

INIAP. (14 de Septiembre de 2022). *Análisis de laboratorio de muestras de plantas y/o sustratos para la determinación de hongos, bacterias y/o virus*.

Vera, W. (2016). *ANÁLISIS DE LA PRODUCCIÓN Y PRODUCTIVIDAD DEL CULTIVO DE PITAHAYA EN LOS CANTONES QUEVEDO, MOCACHE Y VENTANAS*.
Obtenido de <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/1941/1/T-UTEQ-0010.pdf>

Muñoz, N. (2018). *ESTUDIO DE FACTIBILIDAD FINANCIERA PARA LA PRODUCCIÓN DE PITAHAYA (Hylocereus undatus, Britt and Rose) DE EXPORTACIÓN, EN LA COMUNA JULIO MORENO, PROVINCIA DE SANTA ELENA*.
Obtenido de <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/4489/1/UPSE-TAA-2018-0022.pdf>

ANEXOS



Anexo 1. Enraizamiento del cladodio. Imagen izquierda: cladodio recién cortado. Imagen derecha: cladodio 45 días de enraizamiento.



Anexo 2. Preparación del material vegetal.



Anexo 3. Plantas de los tratamientos T2, T3, T4 y T5.