



EL MISIONERO DEL AGRO

PLANTAS DE CRECIMIENTO ESPONTANEO COMO POTENCIALES
HOSPEDERAS DEL TOMATO VENEZUELA VIRUS (ToVEV)

WEEDS AS POTENCIAL HOSTS OF TOMATO VENEZUELA VIRUS (ToVEV)

Filiación:

1. Egresada Facultad de Biología, Universidad del Zulia.
2. Facultad de Agronomía, La Universidad del Zulia (LUZ), Venezuela. Ciencia Agrarias Universidad Agraria del Ecuador.
3. Université catholique de Louvain, Earth and Life Institute, Phytopathology, Croix du Sud 2 Bte L07.05.03, 1348 Louvain-la-Neuve Belgium. Ph.D.
4. Ciencia Agrarias Universidad Agraria del Ecuador. MSc.

Autora:

Ing. Oriana Romero ¹, M.Sc.
orianaromero22@gmail.com

Coautores:

Dorys T. Chirinos ², Ph.D.
dchirinos@uagraria.edu.ec

Ing. Gustavo Romay ³, M.Sc.

Ing. Rossana Castro ⁴, M.Sc.
rcastro@uagraria.edu.ec

Guayaquil - Ecuador

Fecha de presentación: 09/06/2016

Fecha de aceptación: 30/06/2016

PLANTAS DE CRECIMIENTO ESPONTANEO COMO POTENCIALES HOSPEDERAS DEL TOMATO VENEZUELA VIRUS (TOVEV)

WEEDS AS POTENTIAL HOSTS OF TOMATO VENEZUELA VIRUS (TOVEV)

Resumen

Con el fin de estudiar la transmisión experimental de Tomato Venezuela Virus (ToVEV) por *Bemisia tabaci* a especies de plantas de crecimiento espontaneo para evaluarlas como posibles hospederas de dicho virus, se expusieron individualmente a veinte adultos virulíferos de *B. tabaci*, siete especies de plantas comunes en Venezuela pertenecientes a las familias Solanaceae: *Solanum lycopersicum* L., *S. americanum* Mill.; *Datura stramonium* L.; *D. innoxia* DC.; *Amaranthaceae*: *Amaranthus dubius* Mart.; *Capparidaceae*: *Cleome spinosa* Jacq., y *Cucurbitaceae*: *Cucumis anguria* L. Las plantas se mantuvieron dentro de jaulas a prueba de *B. tabaci*, sobre las cuales se hicieron observaciones diarias para detectar síntomas hasta 30 días post-período de exposición al vector. Al final se tomaron muestras de plantas para determinar la presencia de ADN viral mediante PCR. Se observaron síntomas del ToVEV (amplitud 8,5 – 25,7 días) en *S. lycopersicum*, *D. stramonium*, *A. dubius* y *C. anguria* entre el 76 y 100% de las plantas evaluadas, tanto en la transmisión del virus a esas especies como en la retransmisión de las mismas hacia tomate. La presencia de ToVEV en las plantas sintomáticas fue corroborada por PCR. Esto convierte a estas últimas tres especies de crecimiento espontaneo en hospederas potenciales del virus y podrían constituir parte de la cadena epidemiológica del mismo en el campo.

Palabras claves: *Bemisia tabaci*, Tomato Venezuela virus, plantas silvestres.

Abstract

In order to study the experimental transmission of Tomato Venezuela virus (ToVEV) by *Bemisia tabaci* species to wild plants as potential hosts of the virus were exposed to twenty viruliferous adults of *B. tabaci*, seven species of plants common in Venezuela: *Solanaceae*: *Solanum lycopersicum* L., *S. americanum* Mill.; *Datura stramonium* L., *D. innoxia* DC.; *Amaranthaceae*: *Amaranthus dubius* Mart.; *Capparidaceae*: *Cleome spinosa* Jacq., and *Cucurbitaceae*: *Cucumis anguria* L. The plants were kept in cages to test *B. tabaci*, on which observations were made daily for signs up to 30 days post-exposure period vector. At the end plants were sampled for the presence of viral DNA by PCR. ToVEV symptoms were observed (range 8.5 to 25.7 days) on *S. lycopersicum*, *D. stramonium*, *A. dubius* and *C. anguria* between 76 and 100% of the test plants, both on the transmission of the virus to those species as for relaying them to tomato. The presence of ToVEV in symptomatic plants was confirmed by PCR. This makes these latter three species of spontaneous growth of virus in host potential and could constitute part of the virus in the epidemic chain at field.

keywords: *Bemisia tabaci*, Tomato Venezuela virus, host plants

Filiación

1. Egresada Facultad de Biología, Universidad del Zulia.

2. Facultad de Agronomía, La Universidad del Zulia (LUZ), Venezuela. Ciencia Agrarias Universidad Agraria del Ecuador.

3. Université catholique de Louvain, Earth and Life Institute, Phytopathology, Croix du Sud 2 Bte L07.05.03, 1348 Louvain-la-Neuve Belgium. Ph.D.

4. Ciencia Agrarias Universidad Agraria del Ecuador. MSc.

Autora

Ing. Oriana Romero ¹, M.Sc.
orianaromero22@gmail.com

Coautores

Dorys T. Chirinos ², Ph.D.
dchirinos@uagraría.edu.ec

Ing. Gustavo Romay ³, M.Sc.

Ing. Rossana Castro ⁴, M.Sc.
rcastro@uagraría.edu.ec

Fecha de presentación: 09/06/2016
Fecha de aceptación: 30/06/2016

Introducción

La producción del tomate *Solanum lycopersicum* L. en Venezuela, durante muchos años ha sido limitada por problemas fitosanitarios, entre éstos, los artrópodos plagas (Chirinos et al. 2009) y las enfermedades virales (Nava et al., 2013). La mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), es probablemente la especie de mayor importancia, debido a su capacidad de transmitir virus en especial los del género *Begomovirus* (familia Geminiviridae) (Romay et al. 2010). Los begomovirus, consisten en cadenas simples de ADN, de forma circular, que son exclusivamente transmitidos por *B. tabaci* de manera circulativa (Paprotka et al., 2010) y afectan el crecimiento de la planta llegando a causar en campos cultivados grandes epifitias (Romay et al. 2016).

A finales de los años ochenta, las enfermedades virales transmitidas por *B. tabaci* comenzaron a adquirir mucha relevancia en el cultivo del tomate (Nava et al., 2013). Desde entonces, fueron detectados varios begomovirus en diferentes zonas del país, entre éstos, destacan los encontrados en los estados Aragua, Guárico, Monagas (Guzmán et al., 1997), en la región andina (Nava et al., 2006; 2013). En el año 2007, fue reportado por primera

vez en Venezuela y para Suramérica, el virus del encrespado amarillo de la hoja del tomate (Tomato yellow leaf curl virus, TYLCV-Mld), en cultivos comerciales de esta hortaliza en varios estados del país (Zambrano et al., 2007). Posteriormente, dos *Begomovirus* bipartitos fueron detectados en el Zulia (Zambrano et al., 2011) y en Aragua (Zambrano et al., 2012). Todo esto pone en evidencia la diversidad de begomovirus en Venezuela.

De allí la importancia de los inventarios de estas afecciones virales ya que con base a éstos se puede hacer una estimación de aquellos de mayor ocurrencia en el país con el fin de acometer varios aspectos, entre los que resaltan, epidemiología, evaluación de genotipos resistentes y amplitud de plantas hospederas, entre otras para disminuir el impacto que tienen sobre el cultivo del tomate. Uno de los begomovirus importantes en Venezuela es Tomato Venezuela Virus (ToVEV) (Chirinos et al., 2012). A pesar de su importancia no existen investigaciones sobre evaluación de hospederos alternos. En este orden de ideas, este trabajo tuvo como objetivo, la evaluación experimental de plantas cultivadas y silvestres como hospederas de este virus.

Materiales y Métodos

Los ensayos de transmisión fueron realizados en condiciones de laboratorio (T: 26°C, HR: 82°C) combinado con umbráculo (jaulas-umbráculo), en el exterior del laboratorio (T: 34°C, HR: 86°C). La metodología seguida para la obtención de colonias de *B. tabaci* libre de virus, mantenimiento de plantas fuentes del ToVEV, se detallaron en Chirinos et al. (2012).

Producción de plantas experimentales y ensayos de transmisión. Con excepción de tomate, *Solanum lycopersicon* L. que fue utilizada la variedad Rio grande (Petoseed Co. Inc., Saticoy), las semillas de las plantas evaluadas fueron colectadas de plantas en los alrededores de campos de tomate en el estado Zulia y guardadas bajo refrigeración. Fueron sembradas semillas de plantas comunes en Venezuela pertenecientes a las familias: Solanaceae: tomate, *S. lycopersicum* L., hierba mora, *S. americanum* Mill.; ñongue morado, *Datura stramonium* L.; ñongue marrón, *D. inoxia* DC.; Amaranthaceae: bleado, *Amaranthus dubius* Mart.; Capparidaceae: platanito, *Cleome spinosa* Jacq., y Cucurbitaceae: pepinillo de monte, *Cucumis anguria* L. El tomate además de ser el hospedero cultivado afectado por el virus en estudio (ToVEV) fue aquí utilizado como testigo positivo al virus. Estas semillas fueron sembradas en bandejas iniciadoras de polietileno de 30 x 62 cm con 128 receptáculos, llenadas con sustrato a base de turba de musgo (Sunshine Plug Mix 5, Sun Gro Horticulture Inc. Bellevue,

Washington, EE.UU.) y mantenidas dentro del laboratorio, en las jaulas entomológicas de madera y envueltas en bolsa negra de polietileno hasta completar la germinación.

Una vez germinadas las plantas fueron colocadas en jaulas entomológicas arriba descritas, las cuales fueron iluminadas artificialmente en un tramo de un panel de iluminación ya descrito y allí se mantuvieron por 20 días, tiempo durante el cual, se le hicieron tres fertilizaciones (una semanal) con un fertilizante de alta solubilidad Solub® (18-18-18). Posteriormente, las plantas fueron sacadas de las bandejas e individualmente colocadas (con la turba) en pots plásticos (capacidad = 50 cc, dimensiones 5 cm de altura x 3,4 cm de diámetro) y allí expuestas a moscas blancas recién emergidas (24 h) alimentadas sobre las plantas fuentes de ToVEV y sobre plantas de algodón (libre de virus). Veinte adultos fueron colocados por planta para cada especie evaluada. Para ello, se cubrieron con jaulas cilíndricas de plástico transparente (sección de envase de gaseosa de 2 l, 10 cm x 15 cm, diámetro x altura) con el tope cerrado con organdí. Los adultos de *B. tabaci* fueron introducidos dentro de la jaula, colocando el tubo de vidrio del succionador con el cual habían sido colectados (de las plantas con virus o de las de algodón) y destapados boca arriba, donde fueron dejados alimentándose sobre la planta por un período de 48 h como período de acceso para la inoculación (PAI), posterior a lo cual fueron retiradas las

jaulas plásticas.

En ese momento, para eliminar los adultos, las plantas fueron asperjadas con una solución de imidacloprid (Relevo 500®) preparada al 0,04% de ingrediente activo y luego fueron trasplantadas a macetas de 2 kg de capacidad de suelo. Junto con el trasplante, para evitar la llegada de nuevos adultos y el desarrollo de colonias de *B. tabaci* sobre las mismas, se aplicó al suelo 10 cc del mismo insecticida a la misma concentración. Seguidamente las macetas fueron colocadas en las jaulas umbráculos (2,3 m x 1,12 m x 0,63 m; largo x ancho x alto), en el exterior del laboratorio. Las plantas fueron regadas a diario y fertilizadas dos veces por semana. Allí, en los días posteriores a la inoculación (DPI), comenzaron las observaciones diarias para detectar síntomas hasta 30 días después, estimándose así, el día de aparición de síntomas. También se estimó el porcentaje de plantas sintomáticas [(plantas con síntomas / total de plantas) x 100]. Finalmente, para cada una de las especies de plantas que resultaron sintomáticas fueron caracterizados los síntomas observados en las mismas.

Retransmisión a tomate. Con el fin de corroborar la condición de hospedera del virus, para aquellas especies que resultaron sintomáticas, se realizó la retransmisión a tomate mediante el uso de moscas blancas sanas que fueron criadas sobre algodón. Para ello, dos plantas sintomáticas por repetición fueron escogidas y colocadas en jaulas entomológicas ya descritas. A cada planta sintomática se colocó unas 200

moscas para el periodo de acceso a la adquisición (PAA) y así asegurar la transmisión a 5 plantas de tomate por cada planta sintomática utilizando 20 moscas por planta. Para la retransmisión se procedió de la misma manera que en los ensayos de transmisión.

Toma de muestras del vector y tejidos vegetales. Previo a eliminar los adultos fueron tomadas moscas virulíferas y no virulíferas, para cada especie de planta evaluada por repetición, las cuales se colocaron en alcohol etílico al 99%. Se hizo una muestra compuesta por cada condición de 100 adultos aproximadamente con el fin de detectar o descartar la presencia de ADN viral, las cuales fueron divididas en cuatro muestras por condición para su posterior análisis molecular.

Con el objeto de confirmar la transmisión del agente viral se tomaron muestras de la plantas fuentes, de las plantas transmitidas y retransmitidas. También se tomaron muestras de las plantas de algodón, *G. hirsutum*, donde fueron mantenidas las moscas libre de virus.

Análisis moleculares. Para la extracción de ADN de tejido vegetal se siguió el procedimiento de Gilbertson et al. (1991), y con *B. tabaci* se siguió el protocolo de Frohlich et al. (1999). En la PCR se emplearon los cebadores PALiv1978 Y PARic496 diseñados por Rojas et al. (1993) que amplifican un fragmento de 1300 pb aproximadamente, correspondientes a la región común y parcialmente a los genes AV1 y AC1 del virus. El secuenciamiento de los productos

de PCR de las muestras obtenidas de la planta fuente del virus, fueron identificados por medio de electroforesis capilar en un analizador genético modelo ABI Prism™ 310 (Applied Biosystems, CA). Las secuencias obtenidas fueron analizadas a través del programa DNAMAN (versión 5.0; Lynnon BioSoft, Quebec, Canadá) y comparadas con la base de datos de genes del Centro Nacional para Información de Biotecnología (NCBI, siglas en inglés) mediante el programa BLAST 2.0 (Altschul et al., 1997).

Análisis estadísticos. El día de

aparición de síntomas y porcentaje de plantas sintomáticas, previo al análisis fueron transformadas adaptándolas a la normalidad con la función raíz cuadrada más uno ($\sqrt{x+1}$). El análisis de la varianza fue hecho a través del Modelo Lineal General (GLM, siglas en inglés) utilizando un diseño estadístico completamente al azar con un diseño factorial de 2×7 (dos condición de moscas: con y sin virus $\times$ especies de planta: siete) para un total de 14 tratamientos. Las comparaciones de media ($P < 0,05$) fueron hechas a través del método de los Mínimos Cuadrados (LSMEANS, siglas en inglés).

Resultados y Discusión

Presencia e identidad del virus en plantas fuentes y en moscas experimentales. Las muestras de plantas de algodón y las moscas blancas criadas sobre éstas (testigos) no mostraron presencia de ADN viral; mientras que, en las muestras de plantas fuentes y en las moscas blancas criadas sobre las mismas si mostraron la presencia de ADN viral

(Figuras 1 y 2). La secuencia del virus en estas plantas fuentes y en las experimentales arrojó una secuencia nucleotídica de un 95% de similitud con esta secuencia parcial del ToVEV. Esto corrobora experimentalmente la transmisión del virus estudiado y excluye la posibilidad de contaminación con otros begomovirus.

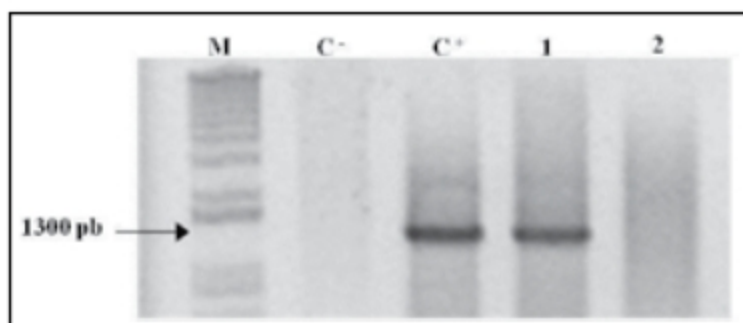


Fig. 1. Detección mediante PCR de begomovirus en muestras de plantas. M: Marcador molecular., C-: Control negativo. C+: Control positivo, 1. Plantas fuentes del virus ToVEV de tomate 2. Plantas de algodón. La flecha indica el fragmento de 1300 pb.

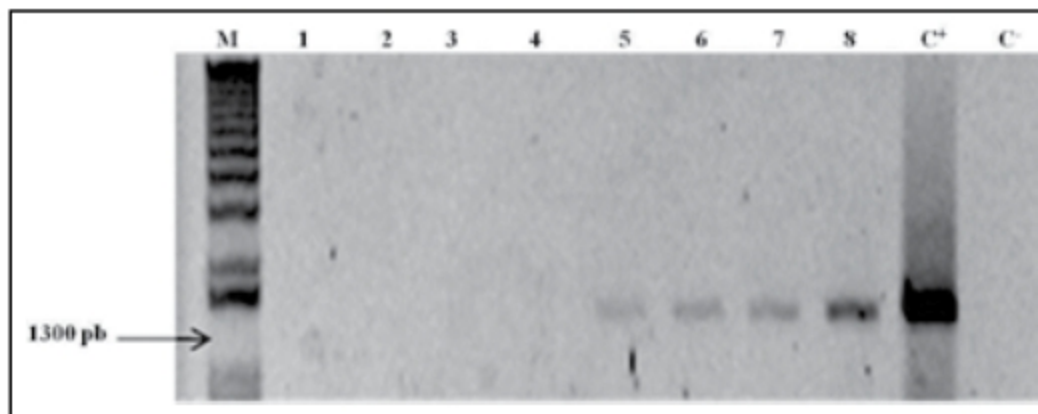


Fig. 2. Detección mediante PCR de begomovirus en los adultos de *Bemisia tabaci* utilizados en el ensayo. M: Marcador molecular., C⁺: Control negativo. C⁻: Control positivo, 1, 2, 3 y 4: Adultos de *B. tabaci* criados sobre plantas de algodón. 5, 6, 7 y 8: Adultos de *B. tabaci* criados sobre plantas de tomate con begomovirus. La flecha indica el fragmento de 1300 pb.

Transmisión. De las siete especies de plantas expuestas a moscas blancas virulíferas, solo *S. lycopersicum*, *D. stramonium*, *A. dubius*, y *C. anguria*, mostraron síntomas de la enfermedad viral lo que fue corroborado mediante PCR (Figura 3). En plantas de tomate (testigo positivo al virus) y en *D.*

stramonium estos porcentajes de transmisión fueron superiores (Tabla 1, $P < 0,05$). Adicionalmente, todas las especies de plantas inoculadas con moscas blancas no virulíferas no presentaron síntomas del virus, ni fue detectada por PCR la presencia de ADN viral.

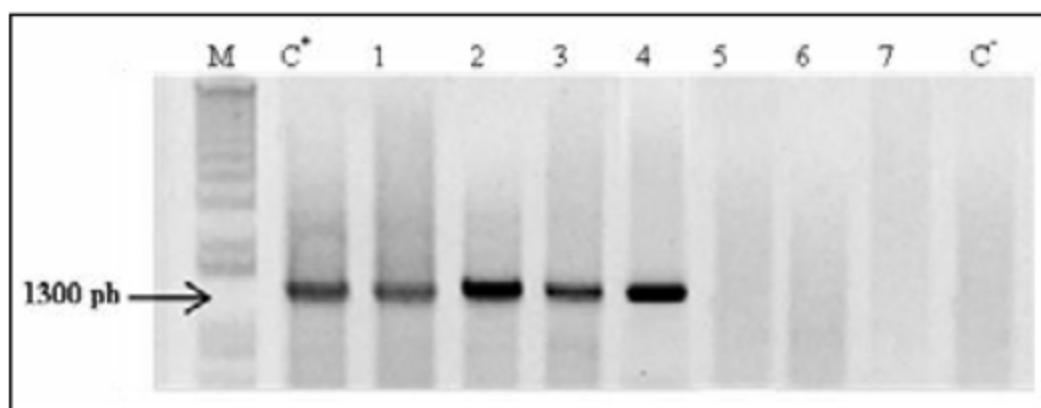


Fig. 3. Detección mediante PCR en muestras de las especies de plantas a las que se les transmitió el ToVEV mediante adultos de *Bemisia tabaci*. M: Marcador molecular., C⁻: Control negativo. C⁺: Control positivo, 1: *Solanum lycopersicum*, 2: *Datura stramonium*, 3: *Amaranthus dubius*, 4: *Cucumis anguria*, 5: *D. inoxia*, 6: *S. americanum*, 7: *Cleome spinosa*. La flecha indica el fragmento de 1300 pb.

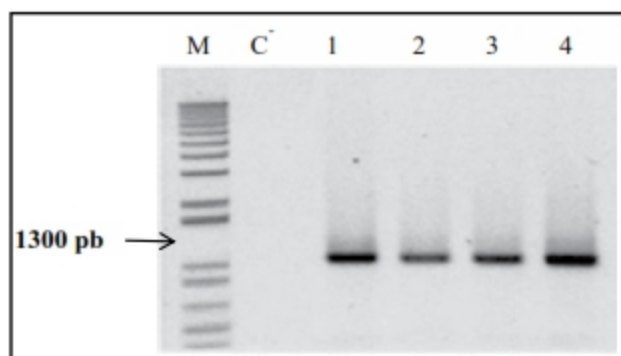


Fig. 4. Detección mediante PCR de Begomovirus detectadas en plantas de tomate retransmitidas a partir de 1: *Solanum lycopersicum*, 2: *Datura stramonium*, 3: *Amaranthus dubius*, 4: *Cucumis anguria*. La flecha indica el fragmento de 1300 pb.

Entre especies de plantas se detectaron diferencias en el día de aparición de los síntomas (Tabla 1), los cuales aparecieron primero en *S. lycopersicum* (9 días), seguido de *D. stramonium* (14 días) y resultaron más tardíos en *A. dubius* (18 días) y en *C. anguria*, especie donde los síntomas aparecieron después de los 25 DPI.

Tabla 1.- PORCENTAJE DE PLANTAS SINTOMÁTICAS Y PERIODO DE APARICIÓN DE SÍNTOMAS (DÍAS) DE TOVEV TRANSMITIDO POR BEMISIA TABACI PARA CADA ESPECIE EVALUADA EXPUESTAS POR SEPARADO A INDIVIDUOS VIRULÍFEROS Y NO VIRULÍFEROS (TESTIGOS).

Especies de plantas	Condición	Aparición de Síntomas (días)	% plantas Sintomáticas
<i>Solanum lycopersicum</i>	Moscas virulíferas	8,5 ± 2,1 d	100 a
<i>Datura stramonium</i>		14,4 ± 0,6 c	92,8 ± 6,6 ab
<i>Amaranthus dubius</i>		25,6 ± 0,9 a	80,0 ± 10 b
<i>Cucumis anguria</i>		18,6 ± 1,8 b	80,1 ± 5,3b
<i>D. inoxia</i>	Moscas no virulíferas (sin virus)	-	-
<i>S. americanum</i>		-	-
<i>Cleome spinosa</i>		-	-
<i>Solanum lycopersicum</i>		-	-
<i>Datura stramonium</i>		-	-
<i>Amaranthus dubius</i>		-	-
<i>Cucumis anguria</i>		-	-
<i>D. inoxia</i>	Moscas no virulíferas (sin virus)	-	-
<i>S. americanum</i>		-	-
<i>Cleome spinosa</i>		-	-

Medias ± desviación estándar. Medias con igual letra no difieren significativamente. Comparaciones de medias hechas con la prueba de Mínimos Cuadrados ($P < 0,05$).

Retransmisión a tomate. Desde las especies experimentales que fueron infectadas y que resultaron positivas al virus, los síntomas de ToVEV lograron ser retransmitidos a plantas de tomate, observándose variaciones en el porcentaje de plantas sintomáticas entre especies (amplitud: 76,6 a 100%, $P < 0,05$, Tabla 2). Plantas de tomate cuya retransmisión se hizo a partir de tomate y de *C. anguria* mostraron síntomas en todas las plantas evaluadas (Tabla 3); mientras que, en las transmitidas a partir de

D. stramonium y *A. dubius* mostraron síntomas el 80,0% y el 76,6% de las plantas, respectivamente. Los síntomas fueron observados aproximadamente a los 8 días sin diferencias significativas entre las especies a partir de la cual se hizo la retransmisión (Tabla 2). Esto muestra experimentalmente que *D. stramonium*, *A. dubius*, y *C. anguria* pueden ser hospederos de este virus, especialmente cuando el análisis molecular a través de PCR, detectó ADN viral en estas plantas de tomate objeto de la retransmisión (Figura 4).

Tabla 2.- PORCENTAJE DE PLANTAS DE TOMATE SINTOMÁTICAS INOCULADAS MEDIANTE *B. TABACI* Y PERIODO DE APARICIÓN DE SÍNTOMAS, A PARTIR DE LAS ESPECIES DE PLANTAS SINTOMÁTICAS EN LA TRANSMISIÓN

Planta fuente de virus	% plantas sintomáticas	Aparición de síntomas (días)
<i>Solanum lycopersicum</i>	100,0 a	8,5 ± 1,9 a
<i>Datura stramonium</i>	80,0 ± 10,0 ab	8,7 ± 2,2 a
<i>Amarantus dubius</i>	76,6 ± 20,8 b	8,9 ± 1,9 a
<i>Cucumis anguria</i>	100,0 a	8,8 ± 2,1 a

Medias ± desviación estándar. Comparaciones de medias hechas con la prueba de Mínimos Cuadrados ($P < 0,05$). Medias con igual letra no difieren significativamente.

D. stramonium había sido previamente evaluadas ante el begomovirus monopartito, TYLCV, donde se comportó como un hospedero sintomático (Chirinos et al., 2009) coincidiendo con los resultados aquí obtenidos. Varias investigaciones han señalado la condición de hospedera alterna de *D. stramonium* ante otros bipartitos, tales como PYMV (Urbino, 2004), ToMoTV (Ramos, 2004) y de un virus descrito para cucurbitáceas, el

MeChLCV (Idris et al., 2008).

La especie *A. dubius* que resultó hospedera sintomática con ToVEV ha sido señalada como maleza hospedante de BGMV en Cuba (Romero et al., 2002). Por otro lado, se ha demostrado en condiciones de campo que otras especies de *Amaranthus* son hospederas de TYLCV (Papayianis et al., 2011).

A partir de *C. anguria* se logró

retransmitir los síntomas de ToVEV, es decir, una especie de cucurbitácea transmitió un virus hasta ahora solo reportado para tomate. Algunas investigaciones señalan a especies de cucurbitáceas transmitiendo virus de especies de plantas en otras familias botánicas. *C. melo* ha sido reportada como hospedero de otros virus, como el CuLCrV el cual fue detectado por PCR en esta especie de planta en campos de cultivos que mostraban síntomas de enfermedades virales (Hagen et al., 2008). Ésta y otras especies de cucurbitáceas, *Cucurbita máxima*, *C. pepo* y *Citrulus lanatus* resultaron hospederos experimentales del MeChLCV (Idris et al., 2008).

Síntomas. En el caso de *S.*

lycopersicum, las hojas mostraron mosaicos amarillentos iniciados con nervaduras cloróticas (Figura 5.1.), tal como fue señalado por Chirinos et al. (2012). *D. stramonium* mostró síntomas que al principio fueron puntos concéntricos alrededor de la nervadura central y en estado más avanzado se observaron deformaciones de la hoja, como consecuencia de la disminución de la lámina foliar comparado con el desarrollo de las venas, lo que estuvo acompañado con amarillamientos intervenales acentuados (Figura 5.2). Estos síntomas resultaron similares a los observados para esta misma especie cuando fue infectada en otra investigación experimental con TYLCV (Chirinos et al., 2009).



Fig. 5.- Síntomas de Begomovirus detectados en las especies de plantas infectadas con *Bemisia tabaci* criadas sobre plantas fuentes de ToVEV 1: *Solanum lycopersicum*; 2: *Datura stramonium*, 3: *Amaranthus dubius*, 4: *Cucumis anguria*.

En el caso de *A. dubius*, los síntomas no se manifestaron con clorosis de hojas, sino con excesiva proliferación de inflorescencias combinado generalmente con disminución de la lámina foliar (Figura 5.3), lo que también coincide con lo detectado para esta especie cuando fue infectada en otro estudio con TYLCV (Güerere et

al., 2012).

Los síntomas en *C. anguria* se manifestaron con reducción de la lámina foliar especialmente notable en las hojas jóvenes y márgenes foliares amarillentos en hojas maduras y senescentes (Figura 5.4.).

Conclusiones

Los resultados muestran que *D. stramonium*, *A. dubius* y *C. anguria* son potenciales hospederos del ToVEV, las cuales son plantas de crecimiento espontáneo que están ampliamente distribuidas en el país, lo que probablemente, las incluye como parte de la cadena epidemiológica en la transmisión de este importante virus en el cultivo del tomate.

Referencias Bibliográficas

- Altschul, S., Madden, T., Schaffer, A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., Lipman, D. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 25, 3389- 3402.
- Argüello-Astorga, G., Ruiz-Medrano, R. (2001). An iteron-related domain is associated to Motif 1 in the replication proteins of geminiviruses: identification of potential interacting amino acid-base pairs by a comparative approach. *Arch. Virol.* 146, 1465–1485.
- Chirinos, D.T., Güerere, P., Geraud, F., Romay, G., Santana, M. A., Bastidas, L. (2009). Transmisión experimental de Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) por *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) a algunas solanáceas en Venezuela. *Rev. Col. Entomol.* 35, 22-27.
- Chirinos, D.T., Geraud-Pouey, F., Romay, G., Güerere, P., Franco, M. A., Galindo-Castro, I. (2012). Evaluación de genotipos comerciales de tomate por su resistencia a Begomovirus. *Interciencia.* 36, 451-456
- Frohlich, D., Torres, I., Bedford, I., Markham P., Brown, J. (1999). A phylogeographical analysis of the *Bemisia tabaci* species complex based on mitochondrial DNA markers. *Mol. Ecol.* 8, 1683-1691.
- Gilbertson, R., Rojas, M., Russell, D., Maxwell, D. (1991). Use of the asymmetric polymerase chain reaction and DNA sequencing to determine genetic variability of Bean golden mosaic Geminiviridae in the Dominican Republic. *J. Gen. Virol.* 72, 2843-2849.
- Güerere, P., Chirinos, D.T., Geraud-Pouey, F., Moriones, E., Santana, M.A. Franco, M. A. Galindo-Castro, I., Romay, G. (2012). Experimental transmission of the mild strain of Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) to *Amaranthus dubius* by *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Phytoparasitica.* 40, 369-373
- Guzman, P., Arredondo, C., Emmatty, D., Portillo R., Gilbertson, R. (1997). Partial characterization of two whitefly-transmitted geminiviruses infecting tomatoes in Venezuela. *Plant Dis.* 81, 312.
- Hagen, C., Rojas, M. R. Kon, T., Gilbertson, R. L. (2008). Recovery from Cucurbit leaf crumple virus (family Geminiviridae, genus Begomovirus) infection is an adaptive antiviral response associated with changes in viral small RNAs. *Phytopathology.* 8, 1029-1037.

- Idris, A.M., Mills-Lujan, K., Martin, K., Brown, J. K. (2008). Melon Chlorotic Leaf Curl Virus: Characterization and Differential Reassortment with Closest Relatives Reveal Adaptive Virulence in the Squash Leaf Curl Virus Clade and Host Shifting by the Host-Restricted Bean Calico Mosaic Virus. *J Virol.* 82, 1959–1967.
- Nava, A., Patte, C., Hiebert E., Polston J. (2006). Detection and variability of Begomoviruses in tomato from the Andean States of Venezuela. *Plant Dis.* 90, 61-66.
- Nava, A., Londoño, A., Polston J. E. (2013). Characterization and distribution of tomato yellow margin leaf curl virus, a begomovirus from Venezuela. *Arch. Virol.* 399 - 406.
- Papayianis, L., Katis, N., Idris A., Brown J. (2011). Identification of weed hosts of tomato yellow leaf curl virus in Cyprus. *Plant Dis.* 95, 120-125.
- Paprotka, T., Meztler V., Jeske, H. (2010). The first 1-like alfa satellites in association with new world begomoviruses in natural infections. 404, 148-157.
- Ramos, P. (2004). Identificación y caracterización biológica y molecular de una nueva especie de begomovirus bipartito: Tomato mottle Taino virus. [Tesis Doctoral] en Ciencias Biológicas. Centro de Ingeniería genética y biotecnología. La Habana, Cuba, 139 p.
- Rojas, M., Gilbertson, R., Russell D., Maxwell, D. (1993). Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. *Plant Dis.* 77, 340-347.
- Romay, G., Geraud-Pouey, F., Chirinos, D., Morales, F., Herrera, E., Fernández, C., Martínez A. K. (2010). Transmisión del virus Venezuela tomato geminivirus por Bemisia tabaci (Gennadius) a tomate, Hemiptera: Aleyrodidae, en Maracaibo, Venezuela. *Neotrop. Entomol.* 39, 266-74.
- Romay, G., Geraud-Pouey, F., Chirinos, D., Galindo-Castro I., Franco, M. A. (2016). Molecular variability of Merremia mosaic virus infecting tomatoes in Venezuela. *Australasian Plant Dis. Notes.* 11. DOI 10.1007/s13314-016-0198-1
- Romero, J.S., González, M., Pérez, N., Pérez, E. (2002). Malezas hospedantes de Begomovirus en Cuba. *Manejo Integrado de plagas y Agroecología (Costa Rica).* 66, 36-38.
- Urbino, C.; Polston, J. E., Patte, C. P., Caruana, M. L. (2004). Characterization and genetic diversity of Potato yellow mosaic

- virus from the Caribbean. Archives of Virology 149, 417-424.
- Zambrano, K., Carballo, O., Geraud, F., Chirinos, D., Fernández, C., Marys E. (2007). First report of Tomato yellow leaf curl virus in Venezuela. PlantDis. 91, 768.
- Zambrano, K., Geraud-Pouey, F., Chirinos, D., Romay G., Marys, E. (2011). Tomato chlorotic leaf distortion virus, a new bipartite begomovirus infecting *Solanum lycopersicum* and *Capsicum chinense* in Venezuela. Arch. Virol. 156, 2263–2266
- Zambrano, K., Fernández-Rodríguez, T., E. Marys, E. (2012). Molecular characterization of a new begomovirus that infects *Euphorbia heterophylla* and *Solanum lycopersicum* in Venezuela. Arch. Virol. 157, 379–382