Bioagro 21(1): 23-31. 2009

TRANSMISIÓN DEL VIRUS TYLCV A DIFERENTES MATERIALES DE TOMATE (*Solanum lycopersicon* L.) MEDIADA POR EL BIOTIPO B DEL COMPLEJO *Bemisia tabaci* (Gennadius)

Francis Geraud[1], Dorys Chirinos[1], Gustavo Romay[2], María Santana[2,3], Liseth Bastidas[1], Carlos Fernández[3] y Laer Flores[1]

RESUMEN

Durante diciembre 2006-febrero 2007 fue evaluada la transmisión de TYLCV por *Bemisia tabaci* (Biotipo B) a materiales de tomate sembrados en macetas dentro de jaulas-umbráculo. Plantas de los híbridos Río Orinoco (ROH), Río Grande (RGH), Cid (CH) y la variedad Río Grande (RGV) fueron expuestas durante 48 h en jaulas individuales a moscas virulíferas provenientes de plantas infectadas de tomate y a no virulíferas mantenidas sobre plantas de algodón. Seguidamente, estas plantas fueron observadas a diario para detectar síntomas. La presencia del *Begomovirus* en las plantas fuente fue determinada mediante amplificación por PCR de los fragmentos de 550 y 851 pb correspondientes a la región central del gen de la proteína de la cápside, cuyas secuencias arrojaron 99% y 96% de identidad, respectivamente con un aislado de TYLCV. En el caso de las plantas experimentales, sólo se determinó la presencia de *Begomovirus* amplificando con PCR el fragmento de 550 pb. ROH, RGH y RGV mostraron síntomas a los 11,3±1,4; 11,2±1,5 y 11,2±1,4 días, post período de exposición al vector, respectivamente, mientras que CH no mostró síntomas durante la evaluación, a pesar de haberse detectado el virus por PCR. Los porcentajes de plantas sintomáticas alcanzaron 100% en RGH y RGV y 95% en ROH. Estos resultados sugieren cierto grado de resistencia del tomate Cid híbrido.
Palabras clave adicionales: Cultivares resistentes, vector, *Begomovirus*, Geminiviridae

ABSTRACT

TYLCV transmission to different tomato accessions (*Solanum lycopersicon* L.) mediated by *Bemisia tabaci* (Gennadius)

During December 2006- February 2007 transmission of TYLCV to tomato potted plants mediated by *Bemisia tabaci* (Biotype B) was evaluated in insect proof cages. Tomato plants of Río Orinoco hybrid (ROH), Río Grande hybrid (RGH), Cid hybrid (CH) and Río Grande variety (RGV) were exposed for 48 hours in individual cages to whiteflies raised either on viral infected tomato plants or healthy cotton plants. Thereafter, plants were observed daily for symptoms detection. Presence of *Begomovirus* in source plants was determined by PCR amplifying the 550 and 851 bp fragments of the central region of the gene coding for the viral coat protein. The sequences of the amplified fragments have 99% and 96% identity respectively with a TYLCV isolate. For experimental plants only presence of *Begomovirus* was determined amplifying by PCR the 550 bp fragment. ROH, RGH and RGV showed symptoms 11.3±1.4, 11.2±1.5 and 11.2±1.4 days post exposure period to the whiteflies, respectively. No symptoms were observed on CH tomato plants despite detection of *Begomovirus* by PCR. Symptomatic plants reached 100% for RGH and RGV, as well as 95% for ROH. These results suggest specific resistance of CH tomato plants to TYLCV infection.
Additional key words: Resistant cultivars, vector, *Begomovirus,* Geminiviridae

INTRODUCCIÓN

En Venezuela, hasta mediados de los años ochenta, el *Begomovirus* de mayor importancia fue el virus del mosaico amarillo del tomate (ToYMV, siglas en inglés), encontrándose principalmente en los estados Aragua, Carabobo, Guárico y Lara (Debrot et al., 1963; Lastra y Uzcátegui 1975). La pérdida del rendimiento del tomate a causa de esta enfermedad viral llegó a producir la reducción de aproximadamente 50 % del área cultivada en el país (Salas y Mendoza,

Recibido: Noviembre 16, 2007 Aceptado: Septiembre 12, 2008
[1] Unidad Técnica Fitosanitaria (MIPFH-UTF), Facultad de Agronomía, La Universidad del Zulia. e-mail: fgeraudp@gmail.com; dtchirinos@gmail.com; liseth.bastidas@gmail.com; laerflores@gmail.com
[2] Instituto de Estudios Avanzados. Apdo. 17606. Caracas. Venezuela. e-mail: gromay@idea.gob.ve; msantana@usb.ve
[3] Dpto. de Biología, División de Ciencias Biológicas Celular, Universidad Simón Bolívar. Caracas. Venezuela.

1995). En papa, síntomas similares a los del ToYMV fueron encontrados y asociados a un agente viral que fue descrito como el virus del mosaico amarillo de la papa (Roberts et al., 1986) y su secuencia completa fue reportada en 1991 quedando como referencia para este virus (Coutts et al.,1991). Sin embargo, estudios posteriores de comparación de secuencias parciales del componente A de este *Begomovirus* con el componente A del ToYMV sugirieron que se trataba del mismo agente viral que podía encontrarse en ambos cultivos, aunque con mayor frecuencia en tomate (Morales et al., 2001). Posteriormente, nuevos geminivirus en tomate fueron detectados en los estados Monagas, Guárico y Portuguesa (Guzmán et al., 1997), así como en la zona andina del país (Nava et al., 2006). Esta situación comenzó a ser cada vez más frecuente y nuevas plantas con síntomas relacionados a *Begomovirus* fueron observadas en campo (Geraud y Chirinos. Datos no publicados).

A partir de la década de 1990 hasta el presente, fuertes epifitias distribuidas en todo el mundo han sido atribuidas a un grupo de *Begomovirus* monopartitos identificados como enfermedad del encrespado amarillo de la hoja del tomate (TYLCD, siglas en inglés). Los primeros registros de un virus de este grupo vienen de las décadas 1930 y 1940 en Israel, el cual fue denominado Virus del encrespado amarillo de la hoja del tomate (TYLCV, siglas en inglés) y coincidió con la aparición de *B. tabaci* como plaga de importancia agrícola en esa región (Varma y Malathi, 2003). Posteriormente, a finales de la década de 1980, comenzaron a presentarse los primeros reportes de estos virus en América y Europa (Accotto et al., 2000). En Florida fue reportado por primera vez en 1997 y un año más tarde en ese mismo estado fueron registradas incidencias de 100 % de plantas con presencia del virus en campo (Polston et al., 1999). Recientemente este virus fue reportado por primera vez para Suramérica en Venezuela, en plantaciones comerciales de tomate de varios estados del país (Zambrano et al., 2007).

Dado que este *Begomovirus* está distribuido en Venezuela, el presente trabajo tuvo como objetivo estudiar la transmisión del TYLCV mediada por *Bemisia tabaci,* a algunos materiales comerciales de tomate para observar la aparición de síntomas así como el porcentaje de plantas sintomáticas en esos materiales y estimar así la susceptibilidad de los mismos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo fue conducido en condiciones de laboratorio (temperatura de 26,7 ± 1,5 °C y humedad relativa de 82 ± 3,7 %) combinado con umbráculo (jaulas-umbráculos en el exterior del laboratorio, aproximadamente a 34 °C y 87 % de humedad relativa) en la Unidad Técnica Fitosanitaria de la Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela, desde diciembre 2006 hasta febrero 2007. La metodología seguida para la obtención de colonias de *B. tabaci* libre de virus, plantas fuentes, tratamientos y análisis se describen a continuación.

Colonia de *B. tabaci* libre de virus

Para mantener una colonia libre de TYLCV fueron usadas plantas sanas de algodón, (*Gossypium hirsutum* L.) de aproximadamente un mes de edad. El algodón ha sido reportado como planta no hospedera a TYLCV (Czosnek et al., 1993; Ghanim y Czosnek, 2000). Para el mantenimiento de la colonia, las plantas fueron infestadas cada tres semanas con adultos recién emergidos. Dichas plantas fueron colocadas dentro de jaulas entomológicas de madera (0,53 m x 0,53 m x 0,53 m, largo x ancho x alto) con manga de tela y parte posterior aireada a través de cobertura de organza e iluminadas artificialmente combinando tubos fluorescentes y bulbos incandescentes, con una duración de 12 horas, sin excluir la luz natural.

Los adultos recién emergidos fueron colectados con un succionador de boca y transferidos a otra jaula entomológica similar a la descrita que contenía cuatro plantas de algodón sanas (para alimentarse y oviponer). Para descartar la presencia de *Begomovirus* en las plantas de algodón se les extrajo ADN total a partir de 10 mg de muestras de ápices disecados, usando el protocolo descrito por Gilbertson et al. (1991) y se realizó la amplificación por PCR de un fragmento de aproximadamente 550 pares de bases (pb) correspondiente a la región central del gen que codifica la proteína de la cápside de los *Begomovirus*, utilizando los cebadores degenerados AV494 y AC1048 de acuerdo a la metodología descrita por Wyatt y Brown (1996).

Una vez descartada la presencia de *Begomovirus*, estas plantas se consideraron aptas para la realización de los ensayos de transmisión en los diferentes materiales de tomate evaluados.

Determinación del biotipo de *B. tabaci* de la colonia libre de virus

La identificación del biotipo de *B. tabaci* de la colonia libre de virus fue confirmada mediante amplificación parcial del gen mitocondrial mtCOI que codifica para la enzima citocromo oxidasa I. A tales fines, de acuerdo a la metodología seguida por Frohlich et al. (1999), se emplearon los cebadores C1-J-2195 y L2-N-3014 que amplifican un fragmento de 800 pb aproximadamente del gen mtCOI. Los productos de PCR obtenidos a partir de ocho individuos de la colonia fueron purificados y las dos cadenas de ADN fueron secuenciadas directamente usando los cebadores antes mencionados y mediante el uso del kit BigDyeTMTerminator versión 3.1 de Applied Biosystems, el cual se fundamenta en la incorporación de terminadores de cadena o dideoxi marcados fluorescentemente por la polimerasa en la reacción de extensión de la PCR. Las secuencias obtenidas fueron comparadas con las secuencias disponibles en la base de datos del banco de genes a través del programa Blast 2.0 (Altschul et al., 1997) para determinar el porcentaje de identidad de individuos de la colonia libre de virus con los diferentes biotipos a nivel mundial.

Producción de plantas sanas para el mantenimiento de plantas fuentes y para experimentos

Para la producción de plantas sanas que serían infectadas para su uso como plantas fuente se utilizó el híbrido Río Orinoco. Las semillas fueron sembradas en bandejas iniciadoras de polietileno de 52 x 62 cm con 162 receptáculos sobre sustrato a base de turba de musgo y mantenidas dentro del laboratorio, envueltas en bolsa de polietileno negro por cuatro días cuando se completaba la germinación. Las bandejas fueron transferidas a jaula-umbráculo (2,3 m x 1,12 m x 0,63 m; largo x ancho x alto) con estructura de perfiles de aluminio cerradas con malla de nylon muy tramada (18 hilos por cm) colocada sobre un mesón de estructura de tubos galvanizados (0,75 m de altura) en el exterior del laboratorio. Después de 20 días de edad, las plantas fueron transplantadas en materos plásticos con 2 kg de suelo utilizando una mezcla de dos partes de suelo areno-francoso y una parte de materia orgánica vegetal descompuesta, previamente esterilizada en autoclave. Los transplantes fueron realizados dentro del laboratorio para evitar riesgos de transmisión de cualquier enfermedad por insecto. Seguidamente, las plantas fueron regresadas a la jaula-umbráculo. Semanalmente fueron fertilizadas con 1 g por planta de la fórmula soluble 18-18-18.

Plantas fuentes del TYLCV

Una planta de aproximadamente 40 días de edad con marcados síntomas de encrespado amarillento fue colectada en sembradíos de las márgenes del río Limón el 26/03/2004 y posteriormente transplantada a un matero con 3 kg de suelo y mantenidas dentro de una jaula-umbráculo similar a las ya descritas. Para trasmitir el agente causal de los síntomas de la planta colectada, 40 adultos recién emergidos de *B. tabaci* criados sobre plantas de algodón fueron colocados por un período de 72 h sobre ramas cortadas de la planta fuente y posteriormente colocadas por 48 h en cuatro nuevas plantas de tomate (10 individuos por planta) de aproximadamente un mes de edad cultivadas dentro otras jaulas umbráculo. Estas nuevas plantas fueron colocadas dentro del laboratorio en jaulas entomológicas como las anteriormente descritas.

Una vez detectada la presencia de *Begomovirus* en las plantas infectadas se procedió a la eliminación de otros posibles virus no persistentes y semipersistentes, trasmisibles por *B. tabaci*. Para ello, cuando las nuevas plantas de tomate mostraron síntomas de encrespado amarillento y las ninfas criadas en esas plantas se encontraban en la fase final de N4 ("pupa", ojos visibles a través del integumento), éstas fueron despegadas y colocadas en cápsulas Petri hasta la emergencia del adulto. Los nuevos adultos fueron inmediatamente transferidos a plantas sanas de tomate para la transmisión del virus adquirido durante la fase ninfal, lo que asegura la transmisión exclusiva de *Begomovirus* a las plantas sanas debido a que los mismos son transmitidos por *B. tabaci* únicamente de manera circulativa (Hull, 2004). Los crinivirus

transmitidos por *B. tabaci* de manera semipersistente requieren que el insecto adquiera el virus como adulto para ser transmitidos por regurgitación (Jones, 2003). Los virus no persistentes y los semipersistentes no penetran en el insecto más allá de los estiletes y del estomodeo, respectivamente. Por tal razón, con el proceso de muda todos estos tipos de virus no circulativos son eliminados con la exuvia del insecto (Raccah, 2001).

Cuando esas plantas de tomate mostraron los síntomas de la enfermedad viral se procedió a tomar muestras de ápices para la extracción de ADN total por el método descrito por Gilbertson et al. (1991) y su posterior análisis mediante la amplificación por PCR utilizando la misma técnica referida para algodón (Wyatt y Brown, 1996). Dado que para el momento del establecimiento de la fuente *in vivo* del virus no se contaba con la identificación de éste, se usaron los cebadores degenerados AV494 y AC1048 que permiten amplificar una secuencia conservada en la región central del gen de la cápside de un amplio número de *Begomovirus* por lo cual se le considera un excelente marcador molecular para identificar y clasificar de manera preliminar a estos virus (Brown et al., 2001). Siguiendo la metodología para el análisis y comparación de la secuencia parcial del gen mtCOI de *B. tabaci*, el fragmento de 550 pb obtenido con los cebadores AV494 y AC1048 fue secuenciado y se identificó preliminarmente el virus como TYLCV. No obstante, con el objeto de precisar la identidad del virus se utilizaron los cebadores específicos KL04-06_TYLCV CP F y KL04-07_TYLCV CP R, los cuales amplifican un fragmento de 851 pb correspondiente a la secuencia completa del gen que codifica la proteína de la cápside del *Begomovirus* TYLCV, para lo cual se siguió la metodología descrita por los autores que desarrollaron estos cebadores (Ling et al., 2006). Nuevamente fue seguida la metodología empleada en el secuenciamiento y análisis de la secuencia parcial del gen mtCOI de *B. tabaci* y las secuencias obtenidas fueron comparadas con las disponibles a través del programa Blast 2.0. Es importante destacar que estos cebadores solo se usaron para precisar la identidad del TYLCV por su condición de especificidad para este virus y por generar un producto de PCR que abarca la secuencia completa del gen de la cápside. El resto de los análisis por PCR para la detección del virus se realizaron a través de la amplificación del fragmento de 550 pb usando los cebadores AV494 y AC1048 por ser éste un procedimiento sencillo con suficiente confiabilidad.

Ensayo de transmisión

Para el ensayo de transmisión las plantas experimentales fueron expuestas a moscas blancas recién emergidas (24 h) alimentadas sobre las plantas fuentes del virus y sobre algodón (libre de virus). Diez adultos fueron colocados por planta para cada material de tomate utilizado. Para ello, se colocaron 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 organza. 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, posterior a lo cual, fueron retiradas las jaulas plásticas.

Una vez culminado el período de acceso para inoculación, para eliminar los adultos, las plantas fueron asperjadas con una solución de imidacloprid (Relevo 500) preparada a 0,04 % i.a. En ese momento las plantas fueron pasadas a las jaulas umbráculos forradas con malla muy fina, ya descritas. Se incluyeron los cultivares de tomate Río Orinoco híbrido, Río Grande híbrido, Río Grande variedad y Cid híbrido, este último promocionado como resistente o altamente tolerante a TYLCV. Fueron expuestos por separado a moscas virulíferas y a moscas no virulíferas totalizando ocho tratamientos. Se realizaron tres repeticiones, utilizándose siete plantas por repetición para las plantas expuestas a moscas virulíferas y tres plantas por repetición para las expuestas a moscas no virulíferas, estas últimas usadas como control negativo (testigo). Un total de 120 plantas fueron usadas en el ensayo. Seguidamente, las plantas fueron observadas a diario hasta los 30 días para detectar síntomas post exposición al vector. Además, se calculó el porcentaje de plantas con síntomas para cada una de las repeticiones, obteniéndose así tres valores por tratamiento para totalizar 24. Finalmente, con el objeto de confirmar la transmisión del agente viral, observada

inicialmente por la aparición de síntomas en las plantas sometidas a moscas virulíferas, fueron tomadas muestras de ápices de las plantas de todos los tratamientos para la detección del virus mediante la amplificación por PCR del fragmento de 550 pb correspondiente a la región central del gen que codifica la cápside referido anteriormente para la muestras tomada de la planta de algodón.

El análisis de la varianza fue hecho utilizando un diseño completamente al azar. Para el análisis del porcentaje de plantas sintomáticas los datos fueron transformados con la función $\sqrt{(X+1)}$ para homogeneizar las varianzas y ajustarlos a la distribución normal. Las comparaciones de medias fueron realizadas mediante la prueba de Tukey utilizando el programa estadístico SAS 6.0 (Cary, NC).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Biotipo de *B. tabaci* de la colonia libre virus

El análisis de la secuencia parcial del gen mtCOI de los individuos provenientes de la colonia libre de virus mostró una amplitud entre 97 y 99 % de identidad nucleotídica con individuos del biotipo B de diferentes regiones del mundo. La presencia de este biotipo fue reportada en Venezuela a principios de esta década en los estados Aragua y Lara sobre solanáceas y cucurbitáceas (Salas y Arnal, 2001). Una de las principales características de este biotipo es su capacidad de transmitir una gran variedad de *Begomovirus* en contraste con otros biotipos (Bedford et al., 1994, Jones, 2003). La amplia distribución del biotipo B, la diseminación de material vegetal infectado, aunado a la capacidad de recombinación de los *Begomovirus*, ha resultado en la expansión y ocurrencia de muchos brotes de estos virus en nuevas regiones del mundo (Polston et al., 1999).

Detección del TYLCV

Las muestras tomadas de las plantas fuentes del virus resultaron positivas a *Begomovirus* (Figura 1). La secuencia mostró 99 % de identidad nucleotídica con el aislado de TYLCV Mild-Portugal para el fragmento de 550 pb correspondiente a la región central del gen que codifica para la proteína de la cápside; éste es reportado como un marcador molecular de gran utilidad para la identificación y clasificación de *begomovirus*, especialmente cuando el porcentaje de similitud supera el 91 % (Brown et al., 2001). Adicionalmente, la presencia de TYLCV fue confirmada con la secuencia del fragmento de 851 pb obtenido con los cebadores específicos que abarca la secuencia completa del gen de la cápside (Figura 2) la cual mostró 96 % de identidad nucleotídica con el aislado de TYLCV recientemente reportado en Venezuela por Zambrano et al., (2007) así como 98 % de identidad con los aislados TYLCV Mild-Portugal y TYLCV Mild-Spain.

Ensayo de transmisión

Para plantas de tomate Río Orinoco híbrido expuestas a moscas virulíferas, sólo una del total de las evaluadas no manifestó síntomas, mientras que en Río Grande (tanto híbrido como variedad), todas las plantas manifestaron síntomas del virus, pero esa diferencia no resultó significativa (Cuadro 1). Igualmente no se detectaron diferencias ($P>0,05$) para el día promedio de aparición de síntomas entre estos tres materiales de tomate, los cuales se observaron aproximadamente a los 11 días (amplitud: 9-14 días; Cuadro 2). Esto último, es complementado con las proporciones diarias de plantas sintomáticas, las cuales, con algunas variaciones mostraron las mismas tendencias (Figura 3).

La presencia de *Begomovirus* fue confirmada por PCR en las muestras de plantas sintomáticas (Figura 4). En contraste, las plantas de tomate inoculadas con moscas no virulíferas (testigo) no mostraron síntomas (Cuadro 1), lo que fue igualmente corroborado por PCR, tanto en muestras de tomate como en la muestra tomada de la planta de algodón (Figuras 1 y 3).

Aunque hasta 30 días después de expuestas a moscas virulíferas las plantas de Cid híbrido no manifestaron síntomas (Cuadros 1 y 2), la presencia de *Begomovirus* fue detectada mediante la PCR (Figura 4), lo que indica que durante el estudio este material de tomate se comportó como un hospedero asintomático. Retrasos de aparición de síntomas de esa magnitud suelen representar menos afección del desarrollo y producción de la planta infectada Este tipo de comportamiento también ha sido observado para materiales de TY1 en ensayos de evaluación de resistencia a TYLCV (Lapidot et al., 1997). Para el manejo de este y otros *Begomovirus* que afectan cultivos, una de las

prácticas recomendadas es el uso de variedades resistentes (Lapidot et al., 1997; 2001; Polston y Anderson, 1997; Rampersand y Umaharan, 2003).

Sin embargo, el uso de materiales resistentes no debe ser utilizado como única alternativa para el manejo de este problema fitosanitario, dado el efecto que podría tener sobre el virus, la presión de selección y en consecuencia el vencimiento de la resistencia. Debe ser combinado con otras estrategias, tales como aplicaciones de insecticidas sistémicos en semilleros y protección de éstos con malla muy tramada (Polston y Anderson, 1997; Polston et al., 1999), todo dentro de la racionalidad del manejo de plagas, con el fin de retardar la transmisión de Begomovirus por *B. tabaci* para disminuir el efecto en la producción de la planta así como interferir con el desarrollo de epifitias en el cultivo del tomate.

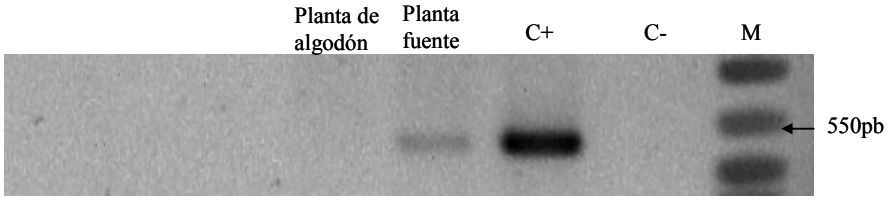

Figura 1. Diagnóstico de *Begomovirus* por PCR de un fragmento de 550 pb en las plantas de algodón y en las plantas de tomate, fuentes del virus utilizadas para los ensayos de transmisión de *Bemisia tabaci*. M: Marcador 1 Kb plus, C-: Control negativo, C+: Control positivo

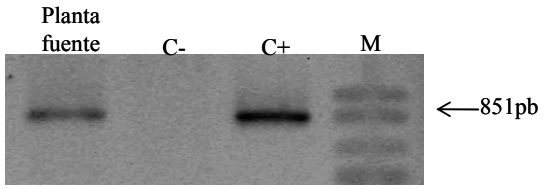

Figura 2. Diagnóstico de TYLCV en un fragmento de 851 pb que amplifican la región total de la proteína de la cápside hecho sobre muestras tomadas de plantas de tomate, fuentes del virus utilizadas en los ensayos de transmisión de *Bemisia tabaci*. M: Marcador 1 Kb plus, C-: Control negativo, C+: Control positivo

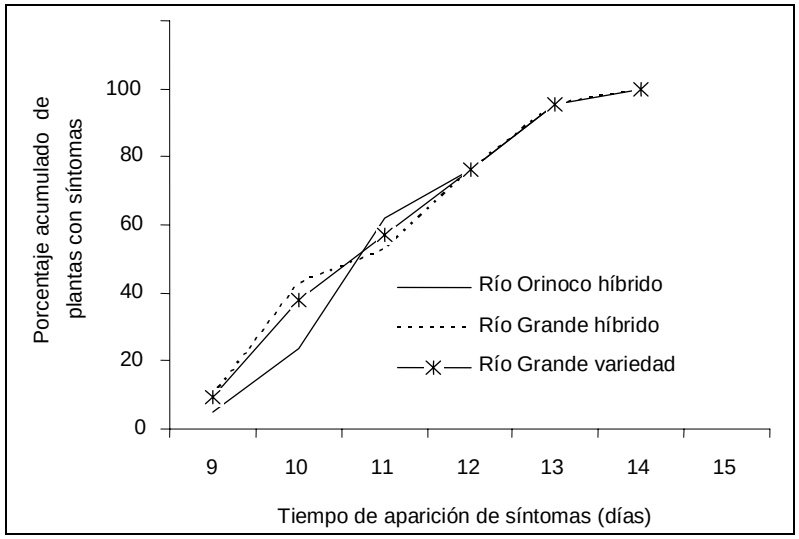

Figura 3. Porcentaje de síntomas de TYLCV acumulado en el tiempo para diferentes materiales comerciales de tomate después de expuestos a adultos virulíferos de *Bemisia tabaci*. Período diciembre 2006-febrero 2007.

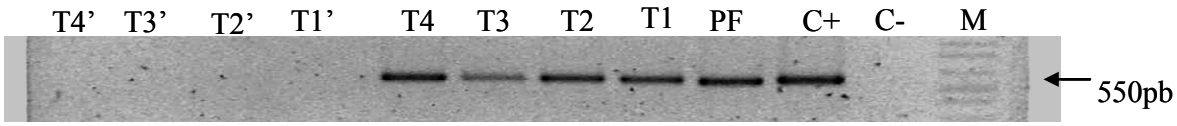

Figura 4. Diagnóstico de *Begomovirus* por PCR de un fragmento de 550 pb en materiales comerciales de tomate evaluados en ensayos de transmisión por *Bemisia tabaci*. M: 1Kbplus, C-: Control negativo, C+: Control positivo, PF: Plantas fuentes del virus, materiales de tomate infectados con individuos virulíferos T1: Río Orinoco híbrido, T2: Río Grande híbrido, T3: Tomate Cid, T4: Río Grande variedad, y los testigos son respectivamente T1', T2', T3' y T4'

Cuadro 1. Porcentaje de plantas con síntomas de *Begomovirus* trasmitido por *Bemisia tabaci* en los diferentes materiales de tomate infectados con individuos virufíleros y no virulíferos (testigos). Período diciembre 2006-febrero 2007. Porcentajes de plantas sintomáticas transformados según raíz cuadrada de x+1; n = 3

Material	Condición	Plantas evaluadas	Plantas sintomáticas	
			Número	Porcentaje
Río Orinoco híbrido	Infectado	21	20	95,2 a
Río Grande híbrido			21	100 a
Rió Grande variedad			21	100 a
Cid híbrido			0	0 b
Río Orinoco híbrido	Testigo	9	0	0 b
Río Grande híbrido			0	0 b
Rió Grande variedad			0	0 b
Cid híbrido			0	0 b

R^2=0,99; CV= 3,45 %; P≤0,01. Medias con igual letra no difieren significativamente entre sí según la prueba de Tukey (P≤0,05)

Cuadro 2. Aparición de síntomas de *Begomovirus* post-exposición a *Bemisia tabaci* para los diferentes materiales de tomate infectados con individuos virufíleros. n = 21

Tratamiento	Aparición de síntomas (días)
Río Orinoco híbrido	11,3 a
Río Grande híbrido	11,2 a
Río Grande variedad	11,2 a
Cid híbrido	0 b

R^2=0,97; CV=17,10; F=534,44; P≤0,01. Medias con igual letra no difieren significativamente entre sí según la prueba de Tukey (P≤0,05)

Este trabajo constituye probablemente el primer ensayo de transmisión realizado con un aislado de este *Begomovirus* monopartito para Suramérica. Además, corresponde a la evaluación de híbridos y cultivares de tomate comercializados en Venezuela, algunos de los cuales están siendo promocionados como resistentes a TYLCV. No obstante, tal como se mencionó este *Begomovirus* no es el único existente en el país. Además, un inventario nacional de *Begomovirus* en tomate y plantas silvestres asociadas, muestran la gran diversidad existente (datos no publicados por los autores). En tal sentido, se hace necesaria la evaluación del comportamiento de este material a algunos otros de importancia en el cultivo del tomate, como es el caso del mosaico amarillo (ToYMV) para así estimar su verdadera capacidad como material resistente.

CONCLUSIONES

Los resultados muestran la susceptibilidad de los materiales de tomate Río Orinoco híbrido y Río Grande (híbrido y variedad) al TYLCV y sugieren cierto grado de resistencia del Cid híbrido, el cual se comportó como un hospedero asintomático del *Begomovirus* al menos por 30 días después de expuesto.

AGRADECIMIENTO

Al FONACIT por otorgar la subvención

G-2000001610. Al Dr. Enrique Moriones, de La Estación La Mayora, Málaga, España, por las correcciones hechas a este manuscrito.

LITERATURA CITADA

1. Accotto, G., J. Navas-Castillo, E. Noris, E. Moriones y D. Louro. 2000. Typing of tomato yellow leaf curl viruses in Europe. Eur. J. Plant Pathol. 106: 179-186.

2. Altschul, S.F., T.L. Madden, A.A. Schäffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller y D. Lipman. 1997. Gapped Blast and PSI-Blast: a new generation of protein database search programs. Nucl. Ac. Res. 25: 3389-3402.

3. Bedford, I., P. Markham, J. Brown y R. Rosell. 1994. Geminivirus transmission and biological characterization of whitefly (*Bemisia tabaci*) biotypes from different world regions. Ann. Appl. Biol. 125: 311-325.

4. Brown, J.K., A.M. Idris, I. Torres-Jerez, G.K. Banks y S.D. Wyatt. 2001. The core region of the coat protein gene is highly useful for establishing the provisional identification and classification of begomoviruses. Arch. Virol. 146: 1581-1598.

5. Coutts, R.H., R.S. Coffin, E.J. Roberts y W.D. Hamilton. 1991. The nucleotide sequence of the infectious cloned DNA components of potato yellow mosaic virus. J. Gen. Virol. 72: 1515-1520.

6. Czosnek, H., A. Kheyr-Pour, B. Gronenborn, E. Remetz, M. Zeidan, A. Altman, H.D. Rabinowitch, S. Vidavsky, N. Kedar, Y. Gafni y D. Zamir. 1993. Replication of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) DNA in agroinoculated leaf discs from selected tomato genotypes. Plant Mol. Biol. 22: 995-1005.

7. Debrot, E., F. Herold y F. Dao. 1963. Notas preliminares sobre el amarillamiento del tomate en Venezuela. Agron. Trop. 10: 33-41.

8. Frohlich, D., I. Torres-Jerez, I. Bedford, P. Markham y J.K. Brown. 1999. A phylogeographic analysis of the *Bemisia tabaci* species complex based on mitochondrial DNA markers. Mol. Ecol. 8: 1593-1602.

9. Ghanim, M. y H. Czosnek. 2000. Tomato Yellow Leaf Curl Geminivirus (TYLCV-Is) is transmitted among whiteflies (*Bemisia tabaci*) in a Sex-Related Manner. J. Virol. 74: 4738-4745.

10. Gilbertson, R.L., M.R. Rojas, D.R. Rusell y D.P. Maxwell. 1991. Use of the asymmetric polymerase chain reaction and DNA sequencing to determine genetic variability of *Bean golden mosaic geminivirus* in the Dominican Republic. J. Gen. Virol. 72: 2843-2849.

11. Guzmán, P., C.R. Arredondo, D. Emmatty, R.J. Portillo y R.L. Gilbertson. 1997. Partial characterization of two whitefly-transmitted geminiviruses infecting tomatoes in Venezuela. Plant Dis. 81: 312.

12. Hull, R. 2004. Matthews' Plant Virology. Academic Press. New York.

13. Jones, R. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. Eur. J. Plant Pathol. 109: 195-219.

14. Lapidot, M., M. Friedmann, M. Pilowsky, R. Ben-Joseph y S. Cohen. 2001. Effect of host plant resistance to Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) on virus acquisition and transmission by its whitefly vector. Phytophatology 91: 1209-1213.

15. Lapidot, M., M. Friedmann, O. Lachman, A. Yehezkel, S. Nahon, S. Cohen y M. Pilowsky. 1997. Comparison of resistance level to tomato yellow leaf curl virus among commercial cultivars and breeding lines. Plant Dis. 81: 1425-1428.

16. Lastra, J.R., y R.C. de Uzcátegui. 1975. Viruses affecting tomatoes in Venezuela. Phytopathol. Z. 84: 253-258.

17. Ling, K., A.M. Simmons, R.L. Hassell, A.P. Keinath y J.E. Polston. 2006. First report of Tomato Yellow Leaf Curl Virus in South Carolina. Plant Dis. 90: 379.

18. Morales, F.J., R. Lastra, R.C. de Uzcátegui y L. Calvert. 2001. Potato yellow mosaic virus: a synonym of Tomato yellow mosaic virus. Arch. Virology 146: 2249-2253.

19. Nava, A.R., C.P. Patte, E. Hiebert y J.E. Polston. 2006. Detection and Variability of Begomoviruses in tomato from the Andean States of Venezuela. Plant Dis. 90: 61-66.

20. Polston, J., R. McGovern y L. Brown. 1999. Introduction of tomato yellow leaf curl virus in Florida and implications for the spread of this and other geminiviruses of tomato. Plant Dis. 83: 984-988.

21. Polston, J.E. y P.K. Anderson. 1997. The emergence of whitefly-transmitted geminiviruses in tomato in the western hemisphere. Plant Dis. 81: 1358-1369.

22. Raccah, B. 2001. Plant Virus Transmission by Insects. Encyclopedia of Life Sciences Nature. Publishing Group. London

23. Rampersand, S.N. y P. Umaharan. 2003. Identification of resistance to potato yellow mosaic virus-Trinidad Isolate PYMV-TT) among *Lycopersicon* Species. Plant Dis. 87: 686-691.

24. Roberts, E.J., K.W. Buck y R.H. Couttts. 1986. A new virus infecting potatoes in Venezuela. Plant Dis. 77: 340-327.

25. Salas, J. y E. Arnal. 2001. *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1899) biotipo B, primer registro para Venezuela utilizando RAPD's-PCR. Entomotropica 16: 181-185.

26. Salas, J. y O. Mendoza. 1995. Reporte de Venezuela. Ceiba 36: 49-50.

27. Varma, A y V. Malathi. 2003. Emerging geminivirus problems: A serious threat to crop production. Ann. App. Biology 142: 145-164.

28. Wyatt, S.D. y J.K. Brown.1996. Detection of subgroup III geminivirus isolates in leaf extracts by degenerate primers and polymerase chain reaction. Phytopathology 86: 1288-1293.

29. Zambrano, K., O. Carballo, F. Geraud, D. Chirinos, C. Fernández y E. Marys. 2007. First report of Tomato yellow leaf curl virus in Venezuela. Plant Dis. 91: 768.