

EVALUACIÓN DE GENOTIPOS COMERCIALES DE TOMATE POR SU RESISTENCIA A BEGOMOVIRUS

Dorys T. Chirinos, Francis Geraud-Pouey, Gustavo Romay, Pascual Güerere, María Alejandra Franco e Iván Galindo-Castro

RESUMEN

Una de las estrategias para disminuir el efecto de los begomovirus en el cultivo de tomate, *Solanum lycopersicum* L., es el uso de genotipos resistentes. En esta trabajo se evaluó la reacción de algunos genotipos comerciales de tomate introducidos en Venezuela [Río Grande (VRG), HA-3228 (Helena) y HA-3229 (Cecile)], a la inoculación de los begomovirus Tomato Venezuela Virus (ToVEV) y Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV), utilizando su vector natural, la mosca blanca *Bemisia tabaci*. Solo las plantas de VRG mostraron síntomas de TYLCV a los 10,0 \pm 1,2 días (100% de plantas sintomáticas),

pero los begomovirus fueron detectados en todos los genotipos evaluados mediante PCR. Las plantas inoculadas con el ToVEV, mostraron síntomas a los 7,8 \pm 2,3 (100%), 11,8 \pm 2,2 (56,7%) y 9,5 \pm 1,1 días (66,7%) en RGV, Helena y Cecile, respectivamente. Los genotipos que fueron asintomáticos al TYLCV mostraron síntomas de ToVEV. Se concluye que no se puede generalizar el término 'resistente a begomovirus' hasta que no se determine el origen y la patogenicidad de los begomovirus presentes en la región productora de tomate afectada.

Introducción

El tomate, *Solanum lycopersicum* L., es una de las hortalizas más cultivadas en Venezuela y el mundo (Polston y Anderson, 1997; Nava *et al.*, 2006; Chirinos *et al.*, 2009). La mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) es probablemente el artrópodo de mayor relevancia en este cultivo, por los daños directos que le causa a las plantas como insecto chupador y por su capacidad para transmitir enfermedades virales, entre las cuales han adquirido especial relevancia las causadas por especies del género *Begomovirus*, Familia Geminiviridae (Polston y Anderson, 1997; Rojas *et al.*, 2000; Urbino *et al.*, 2004)

transmitidos exclusivamente por este vector.

El primer begomovirus reportado en Venezuela fue inicialmente referido con base a su sintomatología como 'un mosaico amarillo del tomate' (Debrot *et al.*, 1963), que posteriormente fuera denominado como 'Virus del mosaico amarillo del tomate' (Lastra y Uzcátegui, 1975), o *Tomato yellow mosaic virus* (ToYMV, por sus siglas en inglés; Morales *et al.*, 2011). Sin embargo, su genoma fue caracterizado en Inglaterra a partir de muestras de papa, *Solanum tuberosum* L., infectadas con este virus, provenientes de Venezuela, por lo que su nombre fue equivocadamente reportado como *Potato yellow mosaic*

virus (PYMV; Roberts *et al.*, 1986; Coutts *et al.*, 1991). Esto generó una controversia taxonómica (Morales *et al.*, 2001; Morales 2006) que continúa actualmente (Morales 2006; Chirinos *et al.*, 2009; Geraud *et al.*, 2009; Romay *et al.*, 2010). En Venezuela, desde finales de los años 80, las afecciones virales en el cultivo del tomate adquirieron mucha importancia (Geraud-Pouey *et al.* 1995, Romay *et al.* 2010), por lo que se han realizado varios inventarios de enfermedades virales en este cultivo (Guzmán *et al.*, 1997; Nava *et al.*, 1997, 1998a, b, 2006; Faria y Nava, 2009). Posterior a la descripción del ToYMV, Guzmán *et al.* (1997) encontraron síntomas asocia-

dos a begomovirus en plantaciones de tomate de los estados Monagas, Portuguesa y Guárico. Los análisis por PCR y secuenciación parcial de muestras provenientes de alguno de esos campos, revelaron la asociación de los síntomas observados con un potencial nuevo begomovirus. El fragmento de ADN viral obtenido y analizado por Guzmán *et al.* (1997) correspondió a la región común del virus, así como la secuencia parcial de los genes AC1 y AV1 que codifican las proteínas encargadas de la replicación viral y la formación de la cubierta proteica del virus, respectivamente. Posteriormente, este begomovirus fue tentativamente denominado como Tomato Venezuela vi-

PALABRAS CLAVE / Begomovirus / Geminiviridae / Mosca Blanca / PCR / Resistencia Genética /

Recibido: 17/06/2011. Modificado: 10/05/2012. Aceptado: 15/05/2012.

Dorys T. Chirinos. Técnica Superior Agrícola, Instituto Universitario Tecnológico de Maracaibo (IUTM), Venezuela. Ingeniera Agrónoma, La Universidad del Zulia (LUZ), Venezuela. Maestría y Doctorado en Entomología, Universidad Central de Venezuela (UCV). Profesora, LUZ, Venezuela. Dirección: Unidad Técnica Fitosanitaria, Facultad de Agro-

nomía, LUZ. Maracaibo, 4005, estado Zulia, Venezuela. e-mail: dtchirinos@gmail.com
Francis Geraud-Pouey. Ingeniero Agrónomo, LUZ, Venezuela. M.S. y Ph.D. en Entomología, University of California, Berkeley, EEUU. Profesor, LUZ, Venezuela. e-mail: fgeraudp@gmail.com
Gustavo Romay. Técnico Superior Agrícola, IUTM, Venezuela. In-

geniero Agrónomo, LUZ, Venezuela. Maestría en Entomología, UCV, Venezuela. Investigador, Fundación Instituto de Estudios Avanzados (IDEA), Venezuela. e-mail: gromay@gmail.com
Pascual Güerere. Ingeniero Agrónomo y Maestría en Biotecnología Agrícola, LUZ, Venezuela. Profesor, IUTM, Venezuela. e-mail: pguerere@cantv.net

María Alejandra Franco. Bióloga, UCV, Venezuela. Ph.D en Ciencias. Investigadora, IDEA, Venezuela. e-mail: mariaalefranco@gmail

Iván Galindo-Castro. Biólogo, UCV, Venezuela. Ph.D en Biología Molecular, Universidad Simón Bolívar, Venezuela. Investigador, IDEA, Venezuela. e-mail: igalindo@idea.gob.ve

EVALUATION OF COMMERCIAL TOMATO GENOTYPES FOR THEIR RESISTANCE TO BEGOMOVIRUSES

Dorys T. Chirinos, Francis Geraud-Pouey, Gustavo Romay, Pascual Güerere, María Alejandra Franco and Iván Galindo-Castro

SUMMARY

One of the strategies to control the incidence of and damage by begomoviruses in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is the use of resistant genotypes. In this work, the commercial tomato genotypes Rio Grande (CRG), HA-3228 (Helena) and HA-3229 (Cecile) were evaluated for the reaction to two begomoviruses present in Venezuela, the Tomato Venezuela virus (ToVEV) and the exotic Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV), both transmitted by the whitefly *Bemisia tabaci*. Only the inoculated CRG genotype showed symptoms of TYLCV at 10.0 \pm 1.2 days (100% of symptomatic plants). However, TYLCV was detected in the

three tomato genotypes tested by PCR. ToVEV-inoculated test plants showed symptoms at 7.8 \pm 2.3 (100%), 11.8 \pm 2.2 (56.7%) and 9.5 \pm 1.1 days (65.7%) in the case of the genotypes CRG, Helena and Cecile, respectively. TYLCV resistant cultivars were susceptible to ToVEV, a native begomovirus widely distributed in Venezuela. Thus, every introduced commercial tomato genotype must be evaluated for its resistance to the local begomoviruses present in Venezuela, regardless of their resistance to other begomoviruses, particularly viruses introduced from the Old World.

AVALIÇÃO DE GENÓTIPOS COMERCIAIS DE TOMATE POR SUA RESISTÊNCIA A BEGOMOVÍRUS

Dorys T. Chirinos, Francis Geraud-Pouey, Gustavo Romay, Pascual Güerere, María A. Franco e Iván Galindo

RESUMO

Uma das estratégias para diminuir o efeito dos begomovírus no cultivo de tomate, *Solanum lycopersicum* L., é o uso de genótipos resistentes. Neste trabalho foi avaliada a reação de alguns genótipos comerciais de tomate introduzidos na Venezuela [Rio Grande (VRG), HA-3228 (Helena) e HA-3229 (Cecile)], à inoculação dos begomovírus Tomato Venezuela Vírus (ToVEV) e Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV), utilizando seu vector natural, a mosca branca *Bemisia tabaci*. Somente as plantas de VRG mostraram sintomas de TYLCV aos 10,0 \pm 1,2 dias (100% de plantas sintomáticas), mas os begomovírus

foram detectados em todos os genótipos avaliados mediante PCR. As plantas inoculadas com o ToVEV, mostraram sintomas aos 7,8 \pm 2,3 (100%), 11,8 \pm 2,2 (56,7%) e 9,5 \pm 1,1 dias (66,7%) em RGV, Helena e Cecile, respectivamente. Os genótipos que foram assintomáticos ao TYLCV mostraram sintomas de ToVEV. Conclui-se que não se pode generalizar o termo 'resistente a begomovírus' enquanto não seja determinada a origem e a patogenicidade dos begomovírus presentes na região produtora de tomate afetada.

rus (ToVEV) por Argüello-Astorga y Ruiz-Medrano (2001).

Este virus fue detectado en la zona andina por Nava *et al.* (2006) en tres de 12 muestras de tomate infectadas por begomovirus, lo que representa un 25% del total de muestras positivas. Según un inventario conducido por más de diez años (desde el 2000 hasta la fecha) en varias regiones del país, el ToVEV es uno de los begomovirus más ampliamente distribuidos en Venezuela (información no publicada). Posteriormente, se detectó en cultivos comerciales de tomate de varios estados de Venezuela el *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV; Zambraño *et al.*, 2007), el cual es un virus introducido a América desde el Viejo Mundo, constituyendo el primer informe de este virus en la América del Sur.

Varias estrategias deben ser consideradas para el manejo de estos importantes problemas fitosanitarios, entre las cuales se incluyen investigaciones sobre la distribución de virus, su epidemiología, amplitud de plantas hospederas y el mejoramiento genético. Actualmente, varios genotipos de tomate han sido mejorados por su resistencia al TYLCV y otros begomovirus del Viejo Mundo. No obstante, en la América Latina estos materiales están siendo promocionados como 'resistentes' a cualquier begomovirus, sean del Viejo o del Nuevo Mundo. Con el fin de aportar información sobre genotipos comerciales de tomate, se evaluó el comportamiento, ante dos begomovirus, del cultivar Rio Grande y dos híbridos mejorados (estos últimos

resistentes a TYLCV), para lo cual se realizó la transmisión experimental de una especie viral del Nuevo Mundo (ToVEV) y el TYLCV.

Este trabajo constó de dos partes: ensayos de transmisión viral y análisis moleculares de detección de la región central del gen de la proteína de la cápside del virus. Los ensayos de transmisión fueron realizados durante el periodo octubre-diciembre 2008, en condiciones de laboratorio combinado con umbráculo (jaulas-umbráculos, en el exterior del laboratorio), en la Unidad Técnica Fitosanitaria (UTF), Facultad de Agronomía, LUZ, Venezuela. Posteriormente, en febrero 2009, fueron llevados a cabo los análisis moleculares en el Instituto de Estudios Avanzados (IDEA), Venezuela.

Materiales y Métodos

Vector, plantas libres de virus y fuentes de virus

Los procedimientos seguidos para la obtención de colonias de *B. tabaci* libres de virus, determinación del biotipo B del vector, identificación del TYLCV y mantenimiento de plantas fuentes, han sido detallados en Geraud *et al.* (2009) y se resumen a continuación. Colonias de *B. tabaci* son mantenidas en el laboratorio sobre plantas de algodón, *Gossypium hirsutum* L., libres de virus. Para dar continuidad a la colonia, las plantas son infestadas cada tres semanas con adultos recién emergidos que son transferidos con un succionador de boca. Dichas plantas están dentro de jaulas entomológicas de madera (0,53x0,53x0,53m) con manga

de tela y parte posterior aireada a través de cobertura de organza (0,45×0,53m) e iluminadas artificialmente en un estante de tres tramos de 1,25m de largo separados verticalmente por 0,60m con cinco tubos fluorescentes de 40W y régimen de 12h de luz, sin excluir la luz natural.

Las plantas fuentes del TYLCV mantenidas en uno de los laboratorios de la UTF, fueron iniciadas de una planta recolectada en el año 2004 en el Estado Zulia en similares jaulas entomológicas y condiciones de iluminación señaladas para plantas de algodón. De esas plantas, se tomó una muestra de ápice foliar total y se extrajo ADN siguiendo el protocolo de Gilbertson *et al.* (1991). Se amplificó un fragmento de 550 pares de bases (pb) usando los cebadores AV494 y AC1048, siguiendo el método descrito por Wyatt y Brown (1996). Este fragmento de ADN viral fue secuenciado en el IDEA por medio de electroforesis capilar en un analizador genético ABI PRISM 377 (Applied Biosystem) utilizando los reactivos incluidos en el estuche BiGDye TMTerminator version 3.1 de Applied Biosystem. Las secuencias obtenidas fueron analizadas y comparadas con la base de datos de genes del Centro Nacional para Información de Biotecnología (NCBI, por sus siglas en inglés). Se obtuvo un 96% de identidad nucleotídica con el aislado TYLCV Mild [Portugal] recién reportado para Venezuela (Zambrano *et al.*, 2007). Adicionalmente, un par de cebadores específicos para el TYLCV (KL04-06_TYLCV CP F y KL04-07_TYLCV CP R) fueron usados para amplificar un fragmento de ADN viral de ~850pb correspondiente al gen de la cápside del virus (Ling *et al.*, 2006).

En otro laboratorio en similares condiciones a las ya descritas, se mantuvo una colonia del ToVEV sobre plantas de tomate. Este virus fue recolectado de plantas

muestreadas en el estado Táchira en julio 2007, y fue iniciada y mantenida de la misma forma como han sido mantenidas las plantas con TYLCV. Para confirmar la presencia del ToVEV, se siguió un procedimiento similar al del TYLCV, pero en este caso se amplificó un fragmento de 1300pb correspondientes a la región común y a parte de los genes AV1 y AC1, utilizando los cebadores degenerados AV1978 y AC715 diseñados por Rojas *et al.* (1993). La secuenciación de este fragmento mostró un 95% de identidad nucleotídica con el ToVEV descrito por Guzmán *et al.* (1997).

Producción de plantas experimentales

Para este ensayo fueron utilizadas semillas de dos híbridos de *Hazera* promocionados como resistentes a begomovirus: HA-3228 (Helena) y HA-3229 (Cecile), siendo ambos resistentes a la especie TYLCV, y semillas del cultivar Río Grande (Petoseed Co. Inc., Saticoy), este último como cultivar susceptible a ambos virus. Dichas semillas fueron sembradas en bandejas iniciadoras de polietileno de 0,30×0,62m con 128 receptáculos, sobre sustrato a base de turba de musgo (Sunshine Plug Mix 5, Sun Gro Horticulture Inc., Bellevue, WA, EEUU) y mantenidas dentro del laboratorio, envueltas en una bolsa negra de polietileno hasta que se completaba la germinación. Posteriormente la bolsa era retirada y las plantas en las bandejas eran mantenidas hasta las inoculaciones para los ensayos de transmisión dentro de jaulas umbráculos con estructura de perfiles de aluminio (2,40×1,20×1,0m; largo × ancho × alto), forradas con malla de nylon muy fina a prueba de *B. tabaci* (18×18 hilos/cm²), ubicadas en el exterior del laboratorio para los ensayos de transmisión. Mientras estuvieron en las bandejas se hicieron tres

fertilizaciones (una semanal) con un fertilizante de alta solubilidad Solub® (18-18-18), aplicando 5cc por planta de la solución preparada a una concentración de 2g·l⁻¹ de agua.

Ensayo de transmisión

Para las inoculaciones, veinte días después, las plantas fueron individualmente colocadas (con la turba) en potes plásticos de 50cc, (5cm de altura × 3,4cm de diámetro) y expuestas a moscas blancas recién emergidas (24h) criadas sobre las plantas fuentes de uno de los dos virus y sobre algodón libre de virus. Veinte adultos fueron colocados por planta para cada genotipo (cultivar o híbridos) de tomate utilizado. Para ello, se cubrieron con jaulas cilíndricas de plástico transparente (sección de envase de gaseosa de 2 litros, 10×15cm, diámetro × altura) con el tope cerrado con organza. Los adultos de *B. tabaci* fueron introducidos en la jaula plástica, colocando el tubo de vidrio del succionador con el cual habían sido obtenidos de las plantas con virus o de las de algodón, destapado boca arriba para que los insectos salieran a alimentarse sobre las plantas por un durante 48h, como periodo de acceso para la inoculación (PAI), luego de lo cual se retiraron las jaulas.

Una vez culminado el PAI, para eliminar los adultos, todas las plantas fueron asperjadas con una solución de imidacloprid (Relevo 500) preparada con 0,53gm i.a./litro. En ese momento las plantas fueron trasplantadas a macetas plásticas con ~2kg de suelo (mezcla 2:1 de suelo areno franco con materia vegetal descompuesta). Una vez sembradas, a cada maceta se le aplicó al suelo 10cc del mismo insecticida, dado que es un producto sistémico que se absorbe por la raíz y cuyo efecto sobre la planta persiste por al menos 35 días, sin dejar durante ese tiempo desarrollar poblaciones del insecto

vector (Chirinos *et al.*, 2011). Las macetas fueron pasadas a las jaulas umbráculos. Las macetas eran regadas a diario y fertilizadas dos veces con 10cc del mismo fertilizante utilizado en semillero y a la misma concentración.

Las plantas fueron expuestas por separado a moscas virulíferas y a moscas no virulíferas, totalizando nueve tratamientos. Se realizaron tres repeticiones, utilizándose 10 plantas/repetición para cada tratamiento (unidad experimental), es decir, plantas expuestas a moscas virulíferas de los dos virus, ToVEV y TYLCV, y expuestas a moscas no virulíferas usadas como control negativo (testigo). Un total de 270 plantas fueron empleadas en el ensayo (tres condiciones del vector, tres repeticiones y tres cultivares de tomate, y 10 plantas por repetición). Seguidamente, las plantas fueron observadas a diario por 30 días para detectar síntomas post exposición al vector. Además, se calculó el porcentaje de plantas con síntomas ((número de plantas sintomáticas / número de plantas expuestas) × 100) para cada unidad experimental, obteniéndose así tres valores por tratamiento.

Finalmente, con el objeto de confirmar la transmisión del agente viral observada inicialmente por la aparición de síntomas, así como para descartar genotipos (cultivar o híbridos) asintomáticos en aquellas plantas sometidas a moscas virulíferas de ambos virus, se tomaron muestras de ápices foliares en tres plantas / cultivar / repetición. Igual número de muestras fueron tomadas en los testigos. Previo a la toma de muestras, las plantas fueron fotografiadas para documentar el estado de las mismas. Para evitar deterioro de las proteínas por putrefacción, cada muestra fue depositada dentro de una copa de papel secante moldeado dentro de un envase de plástico transparente (2,8×4,5cm, diámetro × altura, dimensiones inter-

nas) con tapa enroscada, conteniendo silica gel como desecante en la mitad inferior. Para completar la rápida deshidratación, se cambió la silica gel al siguiente día. Posteriormente esas muestras fueron guardadas en el congelador (-20°C) hasta los análisis moleculares que fueron realizados en el IDEA.

Aislamiento de ADN y reacción en cadena de polimerasa (PCR)

Se realizó extracción de ADN utilizando el protocolo de Gilbertson *et al.* (1991) y se amplificó por PCR un fragmento de 550pb, correspondiente a la región central del gen que codifica la cápside, con los cebadores AV494 y AC1048 diseñados por Wyatt y Brown (1996). Se utilizó 1µg de ADN total de la planta en cada reacción. Como control negativo se incluyeron plantas sanas crecidas en condiciones de aislamiento y como controles positivos plantas enfermas con TYLCV y ToVEV. Las condiciones del termociclador utilizadas para la amplificación fueron 35 ciclos de 92°C por 1min, 55°C por 20s y 72°C por 30s. El producto de PCR fue analizado por electroforesis en agarosa al 1% y solución tampón de Tris-acetato EDTA pH 8,0. En cada pozo se colocaron 8µl del producto de PCR y 2µl de tampón de carga, y luego se corrieron a ~60 V por 30min. Al final de la corrida se tiñó el gel con bromuro de etidio (1µg·ml⁻¹) para la observación del fragmento amplificado bajo luz UV.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño factorial 3×3 (tres condiciones del vector y tres cultivares de tomate) completamente al azar. El día de aparición de síntomas mostró una distribución normal. Para el porcentaje de plantas sintomáticas previo al análisis, los datos fueron transformados con la función $\sqrt{(X+1)}$ para homogeneizar las

varianzas y ajustarlos a la distribución normal. Para el día de aparición de síntomas, el análisis de la varianza fue hecho con el modelo lineal general (GLM) y las comparaciones de media con la prueba de mínimos cuadrados ($P<0,05$). El porcentaje de plantas sintomáticas fue analizado a través de ANOVA y la prueba de medias usando Tukey ($P<0,05$). Los análisis estadísticos fueron hechos con el programa estadístico SAS (1996).

Resultados y Discusión

Las secuencias realizadas para TYLCV y ToVEV de muestras obtenidas de las plantas fuentes de estos virus mantenidas en el laboratorio, fueron depositadas en el banco de genes (GenBank), donde quedaron registradas con los números JX025074 y JX025075, respectivamente. En plantas inoculadas con TYLCV solo se detectaron síntomas en el cultivar Río Grande, en todas las plantas evaluadas (Tabla I) a ~10 días del acceso-inoculación (Tabla II). Por el contrario, los híbridos de Hazera, no presentaron síntomas durante los 30 días de observación. No obstante, la presencia de ADN viral fue detectada por PCR en todas las plantas asintomáticas evaluadas (Figura 1). En contraste, tanto las plantas del cultivar Río Grande como de los híbridos de Hazera mostraron síntomas al ser inoculados con el ToVEV, con diferencias significativas entre los porcentajes de infección (amplitud de 100-56,7%; $P<0,05$; Tabla I). En los materiales de Hazera,

TABLA I
PROMEDIO GENERAL DEL PORCENTAJE DE PLANTAS CON SÍNTOMAS DE BEGOMOVIRUS EN LOS TRES GENOTIPOS COMERCIALES DE TOMATE EVALUADOS

Tratamiento	Cultivar	Plantas sintomáticas (%) (medias)	n
TYLCV	Río Grande	100 a	30
	Helena (3228)	0 c	30
	Cecile (3229)	0 c	30
ToVEV	Río Grande	100 a	30
	Helena (3228)	56,7 b	30
	Cecile (3229)	66,7 b	30
Sin virus	Río Grande	0 c	30
	Helena (3228)	0 c	30
	Cecile (3229)	0 c	30

Comparaciones de medias hechas con la prueba de Tukey ($P<0,05$). Medias con igual letra no difieren significativamente. n: número de plantas evaluadas.

TABLA II
PROMEDIO GENERAL DEL DÍA DE APARICIÓN DE SÍNTOMAS DE LOS BEGOMOVIRUS TRANSMITIDOS A LOS TRES GENOTIPOS COMERCIALES DE TOMATE EVALUADOS

Virus	Cultivar	Aparición de síntomas (días)	n
TYLCV	Río Grande	10 ±1,2 a	30
ToVEV	Río Grande	7,8 ±2,3 b	30
	Helena (3228)	11,8 ±2,2 a	17
	Cecile (3229)	9,5 ±1,1 ab	20

Medias ±desviación estándar. Comparaciones de medias hechas con la prueba de mínimos cuadrados ($P<0,05$). Medias con igual letra no difieren significativamente. n: número de plantas evaluadas.

los síntomas se manifestaron entre los 9 y 12 días (Tabla II) en más de la mitad de las plantas evaluadas (Tabla I), y la presencia del virus fue corroborada por PCR (Figura 1).

En plantas de cultivares Río Grande inoculadas con TYLCV, los síntomas se caracterizaron por acortamiento de los entrenudos apicales, así como, encrespado de las hojas

terminales y amarillamiento acentuado hacia los bordes (Figura 2), mientras que en las plantas inoculadas con ToVEV los síntomas correspondían a mosaicos amarillentos iniciados desde nervaduras cloróticas (Figura 2). En tomate, muchas de las investigaciones orientadas a obtener fuentes de resistencia a begomovirus han sido realizadas para el control del monopartito TYLCV (Lapidot *et al.*, 1997; 2001; Yang *et al.*, 2004; Gómez *et al.*, 2008; Geraud *et al.*, 2009) dadas las cuantiosas pérdidas ocurridas a consecuencia de este virus en varias regiones del Viejo Mundo (Polston *et al.*, 1999; Accotto *et al.*, 2000; Varma y Malathi, 2003). No obstante, algunos de esos genotipos de tomate mejorados para resistir al TYLCV han sido evaluados y han resultado promisorios por su resistencia a begomovirus bipartitos (Giordano *et al.*, 2005). Además, dada la relevancia que ha adquirido el bipartito ToYMV (sin. PYMV) en la América Latina, se han hecho estudios para determinar la resistencia de genotipos de tomate a este virus (Ramperasad y Umaharan, 2003; Boisot *et al.*, 2008).

Con base a las experien-

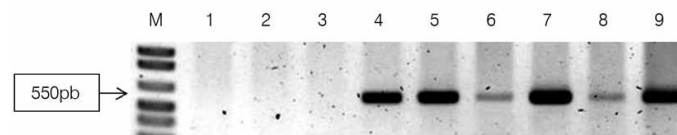


Figura 1. Detección de *Begomovirus* en las plantas de los diferentes cultivares de tomate, *Solanum lycopersicum* L., que fueron inoculadas mediante *Bemisia tabaci* virulíferas y no virulíferas. M: marcador 1Kb. La flecha indica 550 pares de bases. Cebadores: AV494 y AC1048. 1, 4 y 5: Tomate Cultivar Río Grande; 2, 6 y 7: Tomate Helena; 3, 8 y 9: Tomate Cecile. 1 al 3: expuestas a moscas blancas sin virus; 4, 6, 8: expuestas al TYLCV; y 5, 7 y 9 expuestas al ToVEV.



Figura 2. Plantas de los tres cultivares de tomate, *Solanum lycopersicum* L. En las columnas aparecen los cultivares y en las filas los diferentes tratamientos inoculados mediante *Bemisia tabaci* con TYLCV (fila 1), ToVEV (fila 2), y sin virus (fila 3).

cias previas (Giordano *et al.*, 2005), mientras cultivares de tomate resistentes a begomovirus bipartitos son seleccionados y mejorados, podría evaluarse el comportamiento de los cultivares mejorados para otros virus ante la infección de los bipartitos. Para el manejo de los begomovirus que afectan cultivos, una de las prácticas recomendadas es el uso de variedades resistentes (Polston y Anderson, 1997). Los presentes resultados muestran que los cultivares de tomate que resultaron asintomáticos ante el TYLCV mostraron síntomas de ToVEV en más de la mitad de las plantas evaluadas; así, un cultivar resistente ante un begomovirus específico probablemente pueda comportarse como susceptible para otros. Tal es el caso del cultivar de tomate El Cid (Peto Seed), el cual se mostró asintomático ante la infección de TYLCV (Geraud *et al.*, 2009) pero en otro estudio, realizado posterior-

mente, mostró susceptibilidad ante ToVEV (Fernández *et al.*, 2011).

Esta respuesta diferencial podría ser esperada debido a las marcadas diferencias genéticas entre estos virus. El TYLCV pertenece al grupo de begomovirus del Viejo Mundo y ToVEV es un virus cercano genéticamente al ToYMV o PYMV, el cual pertenece al grupo de begomovirus del Nuevo Mundo. Por otra parte, el TYLCV tiene un genoma monopartito mientras que el ToVEV tiene un genoma bipartito. Una de las diferencias que ha sido observada entre begomovirus monopartitos y bipartitos es el rol fundamental de la proteína C4 del TYLCV en el desarrollo y severidad de los síntomas, mientras que la proteína homóloga (AC4) en los begomovirus bipartitos no tiene efectos evidentes sobre el desarrollo y severidad de síntomas (Rojas *et al.*, 2005). Las respuestas de estos virus para evadir los mecanismos

de resistencias impuestos por la planta no necesariamente implican las mismas estrategias. No obstante, otros parámetros de desarrollo (área foliar, altura de plantas, número de ramas) y rendimiento (número, peso y características fisicoquímicas de los frutos) de los cultivares infestados deben ser evaluados para estimar fehacientemente el grado de susceptibilidad de los mismos.

Es necesario conocer la distribución de los begomovirus que afectan al tomate en Venezuela, así como la reacción de los genotipos de tomate cultivados en el país a los diversos begomovirus, con el fin de evitar especulaciones y generalizaciones sobre el comportamiento de los diferentes begomovirus nativos e introducidos en el país.

Conclusiones

Los híbridos de tomate Helena y Cecile resultaron asintomáticos ante el TYLCV,

pero, más de la mitad de las plantas evaluadas de esos cultivares, mostraron susceptibilidad al ToVEV, con manifestación de síntomas. Por tal razón, se concluye que un cultivar resistente a un begomovirus determinado, no necesariamente será resistente a otros begomovirus, sobre todo en caso de especies de begomovirus de diferente origen. Además del tiempo de desarrollo de síntomas y de la proporción de plantas afectadas, otros aspectos tales como crecimiento y rendimiento de plantas infectadas deben ser incluidos para determinar el grado de susceptibilidad.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al FONACIT por el financiamiento parcial a través de la subvención G-200001610 y del proyecto 'Diseño de un Esterilizador de Suelos', al Convenio Cuba-Venezuela por el financiamiento a través del proyecto 'Estudio y Caracterización de la Variabilidad Genética de Plagas Emergentes en los Ecosistemas Agrícolas', a Fundacite-Zulia por el apoyo a estos estudios y a la Red Temática N° 111RT0433.

REFERENCIAS

- Accotto G, Navas-Castillo J, Noris E, Moriones E, Louro D (2000) Typing of Tomato yellow leaf curl viruses in Europe. *Eur. J. Plant Pathol.* 106: 179-186.
- Argüello-Astorga GR, 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.
- Boissot N, Urbino C, Dintinger J, Pavis C (2008) Vector and graft inoculations of Potato yellow mosaic virus reveal recessive resistance in *Solanum pimpinellifolium*. *Ann. Appl. Biol.* 152: 263-269.
- Chirinos DT, Gärerere P, Geraud-Pouey F, Romay G, Santana MA, Bastidas L (2009) Transmisión experimental de Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) por *Bemisia tabaci* (He-

- miptera: Aleyrodidae) a algunas solanáceas en Venezuela. *Rev. Col. Entomol.* 35: 22-27.
- Chirinos D, Paradiso MG, Dávila R, Geraud-Pouey F (2011). Efecto del imidacloprid sobre la transmisión de un begomovirus por *Bemisia tabaci* en tomate. *Rev. Fac. Agron. LUZ* 28 (Supl. Esp. 1): 73-82.
- Coutts RHA, Coffin RS, Roberts E, Hamilton WDO (1991) The nucleotide sequence of the infectious cloned DNA components of *Potato yellow mosaic virus*. *J. Gen. Virol.* 72: 1515-1520.
- Debrot E, Herold F, Dao F (1963) Notas preliminares sobre el amarillamiento del tomate en Venezuela. *Agron. Trop.* 10: 33-41.
- Faria A, Nava A (2009) Detección por PCR de begomovirus en el cultivo del tomate en las áreas productoras de los Andes venezolanos. *Rev. Fac. Agron. LUZ* 26: 179-195.
- Fernández C, Chirinos J, Mejías J, Gómez A, Geraud-Pouey F, Chirinos D. 2011. Growth of four tomato (*Solanum esculentum* L.) accesions infected with Tomato Venezuela Virus (ToVEV). *Rev. Fac. Agron. LUZ* 28 (Supl. 1): 291-300.
- Geraud-Pouey F, Chirinos DT, Rivero G (1995) Artrópodos asociados con el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en Venezuela. *Bol. Entomol. Venez.* 10: 31-49.
- Geraud-Pouey F, Chirinos DT, Romay G, Santana MA, Bastidas L, Flores L (2009) Transmisión del TYLCV a diferentes materiales de tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller) mediado por el Biotipo B del complejo *Bemisia tabaci* (Gennadius) en Venezuela. *Bioagro* 21: 21-33.
- Gilbertson RL, Rojas MR, Russell DR, Maxwell DP (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.
- Giordano B, Silva-Lobo VL, Santana FM, Fonseca MEN, Boiteux LS (2005) Inheritance of resistance to the bipartite *Tomato chlorotic mottle begomovirus* derived from *Lycopersicon esculentum* cv. 'Tyking'. *Euphytica* 143: 27-33.
- Gómez O, Piñon M, Martínez Y, Quiñones M, Fonseca D, Laterrot H (2008) Breeding for resistance to begomovirus in tropic-adapted tomato genotypes. *Plant Breed.* 123: 275-279.
- Guzmán P, Arredondo CR, Emmatty D, Portillo RJ, Gilbertson RL (1997) Partial characterization of two whitefly-transmitted geminiviruses infecting tomates in Venezuela. *Plant Dis.* 81: 312.
- Lapidot M, Friedmann M, Lachman O, Yehezkel A, Nahon S, Cohen S, Pilowsky M (1997) Comparison of resistance level to *Tomato yellow leaf curl virus* among commercial cultivars and breeding lines. *Plant Dis.* 81: 1425-1428.
- Lapidot M, Friedmann M, Pilowsky M, Ben-Joseph R, Cohen S (2001) Effect of host plant resistance to *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) on virus acquisition and transmission by its whitefly vector. *Phytopathology* 91: 1209-1213.
- Lastra JR, De Uzcátegui RC (1975) Viruses affecting tomatoes in Venezuela. *Phytopathol. Z.* 84: 253-258.
- Ling K, Simmons AM, Hassell RL, Keinath AP, Polston JE (2006) First report of *Tomato yellow leaf curl virus* in South Carolina. *Plant Dis.* 90: 379.
- Morales F (2006) History and current distribution of begomoviruses in Latin America. En *Advances in Virus Research*. Vol. 67: Academic Press. San Diego, CA, EEUU. pp. 127-155.
- Morales FJ, Lastra R, De Uzcátegui RC, Calvert L (2001) Potato yellow mosaic virus: a synonym of Tomato yellow mosaic virus. *Arch. Virol.* 146: 2249-2253.
- Nava A, Trujillo G, Chirinos DT, Rivero G (1997) Detección de virus de las zonas productoras de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en Venezuela. II. Estados andinos (Mérida, Táchira y Trujillo). *Rev. Fac. Agron. LUZ* 14: 611-624.
- Nava A, Trujillo G, Chirinos DT, Rivero G (1998a) Detección de virus de las zonas productoras de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en Venezuela. III. Estados centro occidentales (Lara, Portuguesa, Barinas y Cojedes). *Rev. Fac. Agron. LUZ* 15: 23-29.
- Nava A, Trujillo G, Chirinos DT, Rivero G. (1998b) Detección de virus de las zonas productoras de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en Venezuela. IV. Estados Zulia. *Rev. Fac. Agron. LUZ* 15: 135-141.
- Nava AR, Patte CP, Hiebert E, Polston JE (2006) Detection and variability of begomoviruses in tomato from the Andean States of Venezuela. *Plant Dis.* 90: 61-66.
- Polston JE, Anderson PK (1997) The emergence of whitefly-transmitted geminiviruses in tomato in the Western Hemisphere. *Plant Dis.* 81: 1358-1369.
- Polston J, McGovern R, Brown L (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.
- Rampersand SN, Umaharan P (2003) Identification of resistance to *Potato yellow mosaic virus-Trinidad isolate* PYMV-TT among *Lycopersicon* Species. *Plant Dis.* 87: 686-691.
- Roberts E, Buck KW, Coutts RHA (1986) A new virus infecting potatoes in Venezuela. *Plant Dis.* 77: 340-327.
- Rojas MR, Gilbertson RL, Russell DR, Maxwell DP (1993) Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. *Plant Dis.* 77: 340-347.
- Rojas A, Kvanheden A, Valkonen JPT (2000) Geminiviruses infecting tomato crops in Nicaragua. *Plant Dis.* 84: 843-846.
- Rojas MR, Hagen C, Lucas WJ, Gilbertson RL (2005) Exploiting chinks in the plant's armor: Evolution and emergence of geminivirus. *Annu. Rev. Phytopathol.* 43: 361-394.
- Romay G, Geraud-Pouey F, Chirinos DT, Herrera E, Fernández C, Morales F, Martínez KA (2010) Transmisión del Tomato Venezuela Virus (ToVEV) por *Bemisia tabaci* (Gennadius), Hemiptera: Aleyrodidae, en Maracaibo, Venezuela. *Neotrop. Entomol.* 39:2 66-274.
- SAS (1996) *Programa Estadístico SAS para Microcomputadoras*. Versión 6.0. SAS Institute, Inc. Cary, NC, EEUU.
- Urbino C, Polston JE, Patte CP, Caruana ML (2004) Characterization and genetic diversity of Potato yellow mosaic virus from the Caribbean. *Arch. Virol.* 149: 417-424.
- Varma A, Malathi V (2003) Emerging geminivirus problems: A serious threat to crop production. *Ann. Appl. Biol.* 142: 145-164.
- Wyatt SD, Brown JK (1996) Detection of subgroup III geminivirus isolates in leaf extracts by degenerate primers and polymerase chain reaction. *Phytopathology* 86: 1288-1293.
- Yang Y, Sherwood TA, Patte CP, Polston JE (2004) Use of *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) rep genes sequences to engineer TYLCV resistance in tomato. *Phytopathology* 94: 490-496.
- Zambrano K, Carballo O, Geraud F, Chirinos D, Fernández C, Marys E (2007) First report of *Tomato yellow leaf curl virus* in Venezuela. *Plant Dis.* 91: 768.