

Incidencia de los virus del rizado amarillo del tomate en cultivos de tomate de la Comunidad Valenciana, España

L. RUBIO¹, I. FONT², C. JORDÁ², J. SERRA³, N. DURAN¹, P. MORENO¹, J. GUERRI¹

La incidencia de dos especies del virus del rizado amarillo del tomate: TYLCV-Is y TYLCV-Sar durante el año 2001 en cultivos de tomate de la Comunidad Valenciana se estudió mediante hibridación molecular y duplex-PCR. En todas las zonas de cultivos analizadas se detectaron plantas infectadas por TYLCV-Is, mientras que TYLCV-Sar apareció solo en dos plantas de una parcela al sur de la Comunidad Valenciana. Estos resultados y otros obtenidos en prospecciones anteriores sugieren que la población de TYLCV analizada es de origen reciente.

¹ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Apdo. Oficial, Moncada, Valencia, España.

² Unidad de Patología Vegetal, Departamento de Ecosistemas Agroforestales, E.T.S.I.Agrónomos, Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera, s/n. 46022-Valencia, España.

³ Servicio de Sanidad Vegetal, Ctra. Alicante-Valencia, km. 276,5, Silla, Valencia, España.

Palabras clave: TYLCV-Sar, TYLCV-Is, epidemiología, hibridación molecular, duplex-PCR.

INTRODUCCION

El rizado del tomate es una enfermedad que ocasiona todos los años graves daños en cultivos de tomate en muchos países de regiones tropicales y subtropicales, incluyendo España (CZOSNEK Y LATERROT, 1997; MORIONES Y NAVAS-CASTILLO, 2000). Esta enfermedad está causada por varias especies virales pertenecientes al género *Begomovirus* de la familia *Geminiviridae* (RYBICKI *et al.*, 2000), que reciben el nombre del rizado amarillo o de la hoja cuchara del tomate, en inglés *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV). Los *Begomovirus* se caracterizan por poseer las partículas virales geminadas, compuestas por dos icosaedros (Figura 1A) que encierran una (genoma monopartito) o dos (genoma bipartito) moléculas

circulares de ADN monocatenario de unos 2.800 nucleótidos (MORIONES Y NAVAS-CASTILLO, 2000). Todos los aislados de TYLCV europeos presentan genoma monopartito. Las plantas afectadas por estas virosis presentan una reducción de la superficie de los folíolos de las hojas, rizado internervial, amarilleo y enrollado de los bordes hacia arriba, que les da un aspecto acucharado (CONTI *et al.*, 2000) (Figura 1 C y D), de ahí que estos virus se conozcan coloquialmente como virus de la cuchara. Cuando la infección es temprana, las plantas presentan un tamaño reducido, baja producción y calidad del fruto. Estos virus son transmitidos por la mosca blanca del tabaco, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Sternorrhyncha: Aleyrodidae) (Figura 1B) de una manera persistente circulativa (MEHTA *et al.*, 1994). Se ha

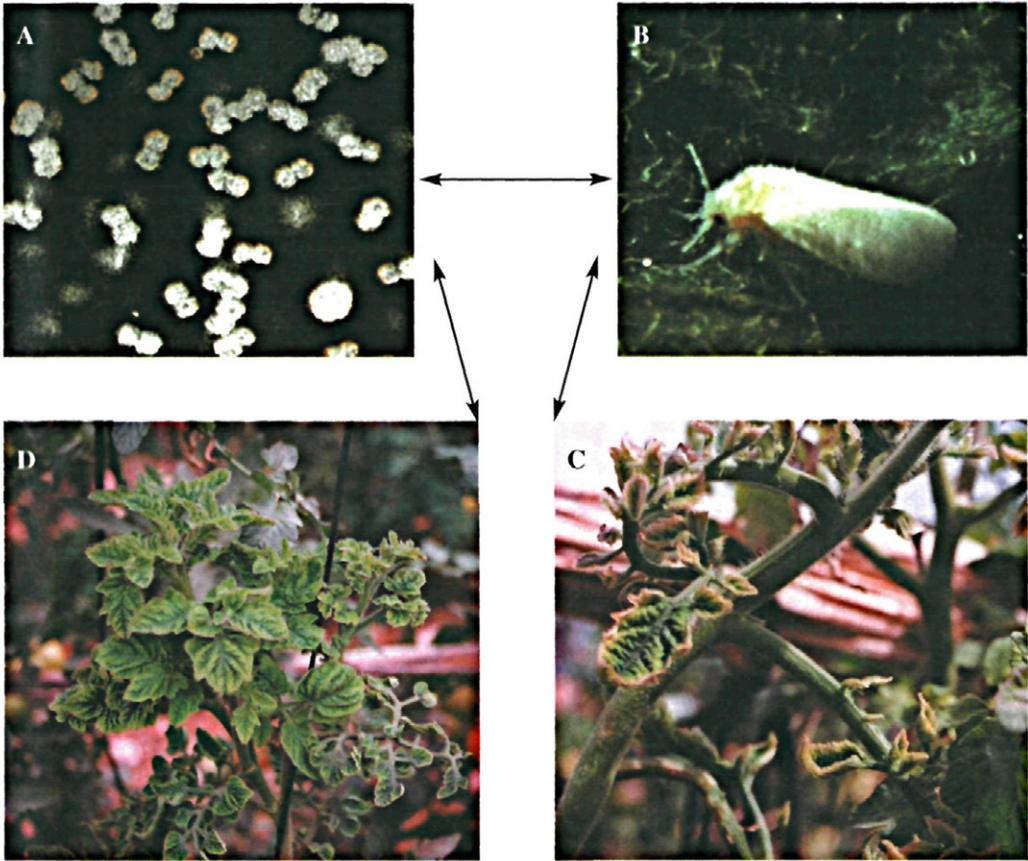


Figura 1.—A) Partículas virales de TYLCV observadas al microscopio electrónico, B) Adulto de *Bemisia tabaci* (Gennadius) C) Planta de tomate infectada por TYLCV-Is, D) Planta de tomate infectada por TYLCV-Sar.

descrito transmisión transovárica hasta al menos dos generaciones en TYLCV (GHANIM *et al.*, 1998), aunque actualmente esto está en discusión.

Tradicionalmente, los diferentes aislados de TYLCV se han incluido en dos grupos o tipos: *Tomato yellow leaf curl virus* tipo Sardinia (TYLCV-Sar) y *Tomato yellow leaf curl virus* tipo Israel (TYLCV-Is) y fueron así denominados por haberse encontrado por vez primera en Cerdeña e Israel respectivamente. En 1999, El Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV) debido a importantes diferencias en los datos de secuencias nucleotídicas, decidió agruparlos en dos especies diferentes: *Tomato yellow leaf curl*

virus especie Sardinia (TYLCV-Sar) y *Tomato yellow leaf curl virus* especie Israel (TYLCV-Is) (ICTV; FAUQUET *et al.*, 1999). Un año después, estas dos especies fueron renombrados como *Tomato yellow leaf curl Sardinia virus* (TYLCSV) y *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) respectivamente (FAUQUET *et al.*, 2000). En el transcurso de este trabajo adoptaremos la nomenclatura de TYLCV-Sar y TYLCV-Is para que resulte más fácil su identificación.

Las dos especies de TYLCV comparten las características propias de TYLCV, aunque muestran algunas diferencias en el rango de huéspedes y en la intensidad de los síntomas que inducen (Figura 1 C y D). TYLCV-

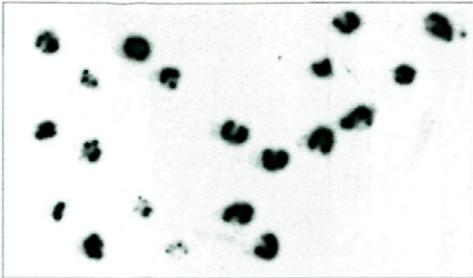


Figura 2.—Hibridación molecular de una sonda específica del virus del rizado amarillo del tomate TYLCV-Is sobre improntas de secciones transversales de peciolo de plantas de tomate.

Is causa daños en tomate más agresivos que TYLCV-Sar. En cuanto a los huéspedes naturales de TYLCV podríamos citar entre otros: *Lycopersicon esculentum* Mill., *Euphorbia* sp. (DAVINO *et al.*, 1994), *Capsicum annum* (REINA *et al.*, 1999), *Phaseolus vulgaris* (NAVAS-CASTILLO *et al.*, 1999), *Solanum luteum*, *Mercurialis ambigua* (SÁNCHEZ-CAMPOS *et al.*, 2000), *Solanum nigrum* L. BEDFORD, *et al.*, 1998), *Conyza sumatrensis* (Retz.) E. Walker, *Convolvulus* sp., *Cuscuta* sp., *Che-nopodium murale* L., *Datura stramonium* L., *Dittrichia viscosa* (L) W Greuter, y *Malva parviflora* L. (JORDÁ *et al.*, 2001).

En las últimas décadas se ha observado una rápida expansión de TYLCV, como consecuencia de la explosión demográfica y colonización de nuevas áreas geográficas del vector (BROWN *et al.*, 1995). En España se detectó por primera vez la especie TYLCV-Sar en 1992 (MORIONES *et al.*, 1993), que ocasionó importantes daños en Murcia; extendiéndose posteriormente a otras áreas de cultivo (NORIS *et al.*, 1994; REINA *et al.*, 1994). En 1997 apareció en Almería la especie TYLCV-Is (NAVAS-CASTILLO *et al.*, 1997), que también se fue extendiendo por todas las zonas afectadas compartiendo nicho ecológico con TYLCV-Sar e incluso parece desplazarlo en algunas zonas (SÁNCHEZ-CAMPOS *et al.*, 1999). En 1999, se detectó en plantas de judía de cultivos comerciales de Almería la existencia de un virus recombinante entre las dos especies de TYLCV, el cual presen-



Figura 3.—Mapa de la Comunidad Valenciana en donde se indican los lugares donde se detectaron TYLCV-Is y TYLCV-Sar.

taba una mejor adaptación biológica que los virus parentales (MONCI *et al.*, 2001). Actualmente el TYLCV se encuentra distribuido por las principales zonas productoras de tomate de España (JORDÁ *et al.*, 2001).

En 1996 se detectó por primera vez TYLCV-Sar de forma puntual en las provincias de Alicante y Valencia (JORDÁ, 1996) y en años posteriores se detectó TYLCV-Is (JORDÁ, datos no publicados); a partir de entonces el incremento en el número de cultivos de tomate afectados por el virus del rizado amarillo ha sido importante, presentándose años de una mayor incidencia que otros. Este hecho es especialmente relevante en cuanto que el tomate es la especie hortícola de mayor

importancia económica en España y las epidemias de TYLCV ocasionan cuantiosas pérdidas. Para el desarrollo de estrategias eficaces de control de la enfermedad es imprescindible conocer en cada zona de cultivo la distribución y epidemiología de los virus causantes. En la Comunidad Valenciana no se había efectuado un estudio sobre la situación de los cultivos de tomate frente a dicha enfermedad aunque, como ya hemos dicho, había sido detectada años anteriores. Este trabajo recoge las prospecciones realizadas respecto a la búsqueda y determinación de las dos especies, TYLCV-Sar y TYLCV-Is, en las principales zonas de cultivos de tomate de la Comunidad Valenciana.

MATERIAL Y METODOS

Material vegetal

Entre mayo y octubre de 2001 se realizó un muestreo en las principales zonas productoras de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), en invernaderos de plástico de la Comunidad Valenciana (véase Tabla 1 y Figura 3). En cada zona se seleccionaron parcelas con plan-

tas de tomate que presentaban los síntomas típicos del rizado del tomate y en cada parcela se analizaron tanto plantas sintomáticas como asintomáticas. También se analizaron plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.) y judía (*Phaseolus vulgaris* L.) en las parcelas donde el cultivo del tomate coexistía con cultivos de una de estas especies vegetales, ya que ambos pueden ser huéspedes de TYLCV. Además, se analizaron plantas silvestres recolectadas en el interior de los invernaderos o próximos a éstos. De cada planta se recogieron varias hojas apicales que se almacenaron a 4 °C hasta su análisis.

Para la obtención de las sondas y como controles positivos en la PCR se emplearon dos aislados de TYLCV de la colección mantenida en la Unidad Docente de Virología de la Universidad Politécnica de Valencia: el aislado 881 (TYLCV-Sar, planta de tomate de Murcia, 1992) y el aislado 2032 (TYLCV-Is, planta de tomate de Almería, 1999).

Extracción del ADN

Para la extracción del ADN total de las muestras objeto de estudio, se empleó el

Tabla 1.—Incidencia de plantas infectadas* con dos especies del virus del rizado del tomate (TYLCV-Is y TYLCV-Sr) en varias zonas de cultivo de la Comunidad Valenciana.

Provincia	Origen	Tomates				Pimientos				Judías			
		^b Plantas	Sínt	Is	Sar	Plantas	Sínt	Is	Sar	Plantas	Sínt	Is	Sar
Valencia	Perelló	30	21	21	0	—	—	—	—	5	0	0	0
	Mareny	15	15	15	0	2	0	0	0	—	—	—	—
	Foios	14	9	11	0	5	1	1	0	10	5	5	0
	Valencia	25	9	13	0	—	—	—	—	—	—	—	—
	Montserrat	4	4	4	0	—	—	—	—	—	—	—	—
	Paiporta	4	3	2	0	—	—	—	—	—	—	—	—
Alicante	Silla	2	2	2	0	—	—	—	—	—	—	—	—
	San Juan	40	31	30	0	—	—	—	—	—	—	—	—
	Elche	9	3	3	2	—	—	—	—	2	1	1	0
	Orihuela	5	2	1	0	—	—	—	—	—	—	—	—
Castellón						—							
	Moncofar	7	4	7	0	—	—	—	—	—	—	—	—
	Benicarló	8	2	4	0	—	—	—	—	—	—	—	—
Total		163	105	113	2	7	1	1	0	17	6	6	0

*La infección fue determinada mediante hibridación molecular.

^bPlantas = n° plantas analizadas, Sínt= n° plantas con síntomas, Is= n° plantas positivas para TYLCV-Is, Sar= n° plantas positivas para TYLCV-Sar.

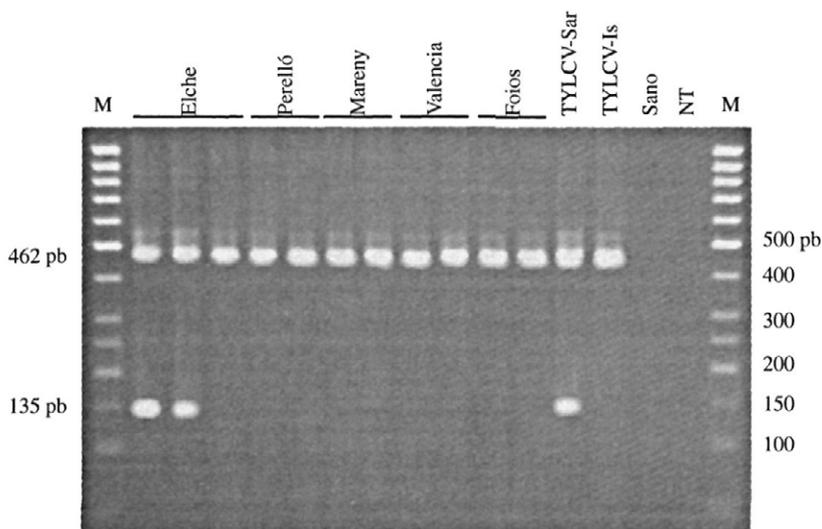


Figura 4.—Electroforesis en gel de agarosa de productos de PCR correspondientes a TYLCV-Is y TYLCV-Sar obtenidos de muestras de tomate recogidos en la Comunidad Valenciana (véase tabla 1 y Figura 3). Las reacciones de PCR se realizaron con el “kit” comercial para la identificación de TYLCV (N.E.E.D., S.L.).

“kit” comercial EZNA (OMEGA BIOTEK, U.S.A.) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Diagnóstico mediante Duplex-PCR

Para la detección e identificación de las especies de TYLCV se utilizó el “kit” comercial para la identificación de TYLCV (N.E.E.D., S.L.) (MARTÍNEZ-CULEBRAS P. *et al.*, 2001). Este “kit” permite identificar el TYLCV y diferenciar las especies de TYLCV-Sar y TYLCV-Is mediante duplex-PCR en una única reacción de forma rápida y sencilla. La amplificación se realizó en un volumen de 25 μ l con 2.5 μ l de ADN, 21.5 ml de TYLCV SET y 1ml de ADN polimerasa (Netzyme; N.E.E.D., S.L.). Las condiciones de la PCR fueron las siguientes: 35 ciclos de 1 min a 95 $^{\circ}$ C, 1 min a 56 $^{\circ}$ C y 1 min a 72 $^{\circ}$ C, seguido de un periodo final de elongación de 10 min a 72 $^{\circ}$ C. Los productos de la reacción fueron analizados mediante electroforesis horizontal en gel de agarosa al 2% en tampón TBE. Los geles fueron teñi-

dos con bromuro de etidio (30 μ g/l) y se visualizaron con luz ultravioleta. En la duplex-PCR se incluyeron controles positivos de TYLCV-Sar y TYLCV-Is así como un control negativo de planta de tomate sana.

Diagnóstico mediante hibridación molecular de improntas

A) Obtención de sondas

Para la síntesis de sondas específicas de TYLCV-Sar y TYLCV-Is, se hizo una amplificación mediante PCR de los aislados 881 y 2032 utilizando las parejas de iniciadores M14/M15(TGCATTTATTTGAAAACG/AAAGGATCCCACATATTG) y M30/M31(GAGCACTTAGGATATGTGAGG/AGTGATCCCACATATTGC), correspondientes a secuencias específicas de TYLCV-Sar y TYLCV-Is respectivamente (Navas-Castillo *et al.*, 1999). La amplificación se realizó en un volumen de 50 μ l con 0,5 μ l de extracto de ácidos nucleicos, 200 μ M de cada uno de los dNTPs, 100 ng de cada iniciador, 1x tampón

de PCR, 1 mM MgCl₂ y 2 U Taq DNA polimerasa, utilizando 35 ciclos de 1 min a 94 °C, 1 min a 50 °C y 1 min a 72 °C, seguido de un periodo final de elongación de 5 min a 72 °C. Los ADNs amplificados se separaron mediante electroforesis horizontal en gel de agarosa al 2% en TAE (40mM Tris-acetato, 1 mM EDTA, pH 8,0) y se visualizaron con luz ultravioleta tras haber sumergido los geles en 30 µg/l bromuro de etidio durante 15 min. Los ADNs se clonaron en pGEM-T (Promega) y se usaron para transformar células de *E. coli* DH5α' (SAMBROOK *et al.*, 1989). Las secuencias nucleotídicas de clones seleccionados se determinaron y mediante el programa BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) se confirmó que los clones obtenidos del aislado 881 correspondían a TYLCV-Sar y los clones del aislado 2032 correspondían a TYLCV-Is. A partir de estos clones se sintetizaron sondas y se marcaron con digoxigenina mediante una reacción de PCR idéntica a la descrita en el apartado anterior, excepto que se incluyó 70 µM DIG-UTP.

B) Hibridación molecular de improntas

El análisis por hibridación molecular se llevó a cabo sobre improntas de cortes transversales de pecíolos de las muestras vegetales en membranas de nylon. Los ácidos nucleicos adsorbidos en las membranas se fijaron mediante irradiación con luz ultravioleta (50 mJ) durante 50 s. Posteriormente, las membranas se prehibridaron a 65 °C en una solución compuesta de 0,2 % SDS, 5x SSC (1x SSC: 150 mM NaCl, 15 mM citrato sódico, pH 7,0), 2 % reactivo bloqueante (Roche), y 0,1 % N-lauroylsarcocina. Al cabo de dos horas, se añadió 25 ng de sonda previamente desnaturalizada (calentando a 95 °C durante 5 min) y se incubó a 65 °C durante unas 16 h. Tras la hibridación, las membranas se lavaron dos veces en 2x SSC y 0,1% SDS a temperatura ambiente durante 5 min, y otras dos veces en 0,1 % SSC y 0,1 % SDS a 65 °C durante 5 min. La hibrida-

ción se reveló utilizando un anticuerpo anti-DIG-fosfatasa alcalina y sustrato quimioluminiscente CSPD (Roche) siguiendo las instrucciones del fabricante.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La técnica de hibridación molecular de improntas permitió detectar de forma rápida e inequívoca la infección de plantas por TYLCV-Sar y TYLCV-Is (Figura 2). El análisis de 187 plantas recogidas durante el año 2001 mostró que la especie TYLCV-Is estaba ampliamente distribuida en la Comunidad Valenciana, mientras que la especie TYLCV-Sar se encontró solamente en dos plantas de un invernadero de Elche, Alicante (Tabla 1 y Figura 3). El virus se detectó en todas las plantas que mostraban síntomas, observándose una alta correlación entre la intensidad de síntomas y la de la señal de hibridación. En algunas plantas asintomáticas se detectó el virus, aunque en estos casos la señal de hibridación fue siempre débil. De esta forma la hibridación molecular se mostró como técnica eficaz para el diagnóstico precoz del virus, antes de que los síntomas se manifiesten. Debido a la gran sensibilidad de la técnica PCR y con objeto de validar la hibridación para el diagnóstico de TYLCV, se analizaron 56 muestras de tomate y 4 de judía mediante duplex-PCR. De las muestras infectadas con la especie de TYLCV-Sar se obtuvieron dos fragmentos de amplificación de 462 y 135 pb respectivamente, mientras que aquellas que estaban infectadas por la especie de TYLCV-Is únicamente se obtuvo un fragmento de amplificación de 462 pb (Figura 4). Los resultados obtenidos por PCR confirmaron totalmente aquellos obtenidos por hibridación molecular.

El predominio de TYLCV-Is con respecto a TYLCV-Sar observado en la Comunidad Valenciana, en este estudio, contrasta con la situación observada en otras zonas en años anteriores, donde TYLCV-Is y TYLCV-Sar coexistían en una proporción similar. Esto podría deberse a varios factores. I)

TYLCV-Is podría estar mejor adaptado al huésped (tomate) y desplazar a TYLCV-Sar cuando ambos coinfectan una planta. Este no parece ser el caso, ya que en experimentos en los que se coinocularon estas dos especies virales en plantas de tomate mediante *Agrobacterium* o *B. tabaci* se observó que ambas podían coexistir, sin ventaja selectiva para ninguna de ellas (SÁNCHEZ-CAMPOS *et al.*, 1999). II) Diferencias en la infectividad de TYLCV-Sar y TYLCV-Is en otros huéspedes que se cultivan en la misma zona alternando con tomate, podrían haber actuado como reservorios del virus seleccionando una especie de TYLCV y hacer que predominara en epidemias posteriores. El desplazamiento de TYLCV-Sar por TYLCV-Is en el sur de España es atribuido principalmente al cultivo de judía entre las temporadas del cultivo de tomate (SÁNCHEZ-CAMPOS *et al.*, 1999), puesto que la judía puede ser infectada por TYLCV-Is pero no por TYLCV-Sar (Navas-Castillo *et al.*, 1999). Sin embargo, en La Comunidad Valenciana la situación es diferente, ya que el cultivo de tomate no se alterna con el de la judía ni con cultivos de otras especies susceptibles a TYLCV. III) La flora silvestre próxima a los cultivos podría haber actuado como reservorio del virus en los periodos en que no se cultiva el tomate. Se han descrito diferencias de infectividad en algunas especies silvestres, como *Solanum luteum* y *S. nigrum* que solo se infectan con TYLCV-Sar, mientras que *Mercurialis ambigua* sólo lo hace con TYLCV-Is (Navas-Castillo *et al.*, 1997; Bedford *et al.*, 1998; Sánchez-Campos *et al.*, 2000). La composición de la flora silvestre en cada zona geográfica podría ser un determinante de la población de TYLCV local. Sin embargo, este factor no parece ser importante en las zonas estudiadas en este trabajo, ya que en el interior de los invernaderos la flora silvestre es prácticamente inexistente y en el exterior las condiciones climáticas de la Comunidad Valenciana en la época en la que se realizó la prospección no eran las propicias para que existiera una población importante de *B. tabaci*. Ninguna de

las plantas silvestres analizadas en este trabajo estuvo infectada por TYLCV-Sar o TYLCV-Is (datos no mostrados). IV) Diferencias en la transmisibilidad en ambas especies de TYLCV por *B. tabaci* podría haber favorecido la dispersión de una sobre la otra. Sánchez-Campos *et al.* en 1999 demostraron que la transmisión por *B. tabaci* de TYLCV-Is es más eficiente que la de TYLCV-Sar, pero las diferencias en transmisibilidad entre ambas especies virales no son tan pronunciadas como para explicar por sí solas el rápido desplazamiento de TYLCV-Sar por TYLCV-Is en la Comunidad Valenciana. V) Es posible que la población de TYLCV que se hallaba presente en años anteriores, que era mínima, haya remitido y la población de TYLCV observada en el año 2001 en la Comunidad Valenciana se deba a introducciones recientes de material infectado procedente del sur de España donde TYLCV-Is predomina. Esta parece ser la causa más probable, ya que en la Comunidad Valenciana el cultivo del tomate no se realiza de forma continua a lo largo del año y en la rotación no se usan cultivos hortícolas que pudieran actuar como reservorio del virus. Esto unido al descenso drástico de la población de mosca blanca en invierno puede haber contribuido a romper el ciclo de transmisión de TYLCV. Encuestas epidemiológicas realizadas confirmaron que en algunas parcelas apareció el rizado de tomate después de importar plantas de otras zonas donde el virus es prevalente.

Dada la importancia del cultivo de tomate en la Comunidad Valenciana y la gran capacidad de expansión de la enfermedad del rizado amarillo del tomate, es crucial disponer un método rápido y fiable de diagnóstico de cada especie viral de TYLCV, ya que el comportamiento de las variedades resistentes frente a cada uno de estos aislados puede ser diferente. La hibridación molecular de improntas de tejido vegetal parece una técnica adecuada, suficientemente sensible y con capacidad de analizar simultáneamente un gran número de muestras sin necesidad de preparar ex-

tractos. Esta técnica y la técnica de duplex-PCR parecen especialmente adecuadas para estudios epidemiológicos y para evaluar la eficacia de las medidas de control. Actualmente se están usando para la evaluación de variedades de tomate resistentes o tolerantes a distintas especies de TYLCV.

AGRADECIMIENTOS

Parte de este trabajo ha sido financiado por los proyectos IVIA 5018 y AGF1998-0439-005-03 del CICYT. Agradecemos a los técnicos de las cooperativas agrícolas de las poblaciones estudiadas por facilitarnos el muestreo.

ABSTRACT

RUBIO L., I. FONT, C. JORDÁ, J. SERRA, N. DURÁN, P. MORENO, J. GUERRI. 2002. Incidencia de los virus del rizado amarillo del tomate en cultivos de tomate de la Comunidad Valenciana, España. *Bol. San. Veg. Plagas*, **28**: 599-607.

The incidence of *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV)-Sar and TYLCV-Is in tomato crops of Valencia Comunity, Spain during the year 2001 was evaluated using molecular hybridization and duplex-PCR analyses. TYLCV-Is was spread in the main tomato crops of Comunidad Valenciana, whereas TYLCV-Sar was found only in two plants from a single orchard, located in the South. These results and other previous data suggest that the present TYLCV population was originated recently.

Key words: TYLCV-Sar, TYLCV-Is, epidemiology, molecular hybridization, duplex-PCR.

REFERENCIAS

- BEDFORD I.D., KELLY A., BANKS G.K., BRIDDON R.W., CENIS J.L., MARKHAM P.G. 1998. *Solanum nigrum*: an indigenous weed reservoir for a tomato yellow leaf curl geminivirus in southern Spain. *European Journal of Plant Pathology*, **104**: 221-222.
- BROWN J.K., FROHLICH D.R., ROSELL, R.C. 1995. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: Biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex. *Annual Review of Entomology*, **40**: 511-534.
- CONTI M., GALLITELLI D., LISA V., LOVISOLO O., MARTELLI G.P., RAGOZZINO A., RANA G. L., VOVLAS C. 2000. Virus del rizado amarillo del tomate. En "Principales virus de las plantas hortícolas", pag. 104-109. Ediciones Mundi-Prensa. ISBN: 84-7114-958-3
- CZOSNEK H., LATERROT H., 1997. A worldwide survey of tomato yellow curl leaf viruses. *Archives of Virology*, **142**: 1391-1406.
- DAVINO M., D'URSO F., AREDDIA R., CARBONE M., MAUROMICALE, G. 1994. Investigations on the epidemiology of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) in Sicily. *Petria*, **4**: 151-160.
- FAUQUET C.M., MAXWELL D.P., GRONENBORN B., STANLEY, J. 2000. Revised proposal for naming geminiviruses. *Archives of Virology*, **145**: 1743-1761.
- FAUQUET C.M., MAYO, M.A. 1999. Abbreviations for plant virus names-1999. *Archives of Virology*, **144**: 1249-1274.
- GHANIM M., MORIN S., ZEIDAN M., CZOSNEK H. 1998. Evidence for transovarial transmission of Tomato yellow leaf curl virus by its vector, the whitefly *Bemisia tabaci*. *Virology*, **240**: 295-303.
- JORDÁ, C. 1996. Informe tomate: incidencia de los virus. *Hortoinformación*, **74**: 41-42
- JORDÁ C., FONT I., MARTÍNEZ P., JUAREZ M., ORTEGE, A., LACASA A. 2001. Current status and new natural host of Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) in Spain. *Plant Dis.*, **85**: 445.
- MARTÍNEZ CULEBRAS P., FONT I., JORDÁ C., 2001. A rapid PCR method to discriminate between Tomato yellow leaf and virus isolates. *Ann. Appl. Biol.*, **139**: 251-257.
- MEHTA P., GIMAN J.A., NANCLA M. K., MAXWELL D.P. 1994. Transmission of tomato yellow leaf curl geminivirus by *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *J. Econ. Entomol.*, **87**: 1291-1297.
- MONCI F., NAVAS-CASTILLO J., MORIONES, E. 2001. Evidence of a naturally occurring recombinant between *Tomato yellow leaf curl virus* and *Tomato yellow leaf curl Sardinia virus* in Spain. *Plant Dis.*, **85**: 1289.
- MORIONES E., ARNÓ J., ACCOTTO G.P., NORIS E., CAVALLARIN L. 1993. First report of tomato yellow leaf curl virus in Spain. *Plant Dis.*, **77**: 953.
- MORIONES E., NAVAS-CASTILLO, J. 2000. Tomato yellow leaf curl virus, an emerging virus complex causing epidemics worldwide. *Virus Res.*, **71**: 123-134.
- NAVAS-CASTILLO J., SÁNCHEZ-CAMPOS S., DÍAZ J.A., SÁEZ-ALONSO, E., MORIONES, E. 1997. First report of tomato yellow leaf curl virus-Is in Spain: coexistence

- of two different geminiviruses in the same epidemic outbreak. *Plant Dis.*, **81**: 1461.
- NAVAS-CASTILLO J., SÁNCHEZ-CAMPOS S., DÍAZ J.A., SÁEZ ALONSO E., MORIONES E. 1999. Tomato yellow leaf curl virus-Is causes a novel disease of common bean and severe epidemics in tomato in Spain. *Plant Dis.*, **83**: 29-32.
- NORIS E., HIDALGO E., ACCOTTO G. P., MORIONES E. 1994. High similarity among the tomato yellow leaf curl virus isolates from West Mediterranean Basin: The nucleotide sequence of an infectious clone from Spain. *Archives of Virology*, **135**: 165-170.
- REINA J., JIMÉNEZ J., BEJARANO E.R., GUERRA J.M., CUADRADO I.M., GARCÍA, C. 1994. El virus del rizado amarillo del tomate (TYLCV). *Hortifruticultura*, **6**: 36-40.
- REINA J., MORILLA G., BEJARANO E.R. 1999. First report of *Capsicum annuum* Plants Infected by Tomato Yellow Leaf Curl Virus. *Plant Dis.* **83**: 1176.
- RYBICKI E.P., BRIDDON R.W., BROWN J.K., FAUQUET C.M., MAXWELL D.P., HARRISON B.D., MARKHAM P.G., BISARO D.M., ROBINSON D., STANTELY J. 2000. Family *Geminiviridae*. In *Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, pp. 285-297. Editado por M. H. V. Van Regenmortel C. M. Fauquet, D. H. L. Bishop, E. B. Carstens, M. K. Estes, S. M. Lemon, J. Maniloff, M. A. Mayo, D. J. McGeoch, C. R. Pringle & R. B. Wickner, Academic Press, San Diego.
- SAMBROOK J., FRITSCH E.F., MANIATIS T. 1989. Molecular cloning. A laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.
- SÁNCHEZ-CAMPOS S., NAVAS-CASTILLO J., CAMERO R., SORIA C., DÍAZ J.A., MORIONES, E. 1999. Displacement of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)-Sr by TYLCV-Is in tomato epidemics in Spain. *Phytopathology*, **89**: 1038-1043.
- SÁNCHEZ-CAMPOS S., NAVAS-CASTILLO J., MONCI F., DÍAZ, J.A., MORIONES E. 2000. *Mercurialis ambigua* and *Solanum luteum*: two newly discovered natural hosts of tomato yellow leaf curl geminiviruses. *European Journal of Plant Pathology*, **106**: 391-394.

(Recepción: 8 marzo 2002)

(Aceptación: 12 marzo 2002)